

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**JİNEKOLOJİK KANSERLİ HASTALARDA
CoQ₁₀'UN TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Neşe TOKOL TUNALI

**Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2007**

TC
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

JİNEKOLOJİK KANSERLİ HASTALARDA
CoQ₁₀'UN TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Neşe TOKOL TUNALI

Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Mine İNAL

ESKİŞEHİR
2007

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr.Neşe TOKOL TUNALI'YA ait "Jinekolojik Kanserli Hastalarda CoQ₁₀'un Tedavi Edici Etkinliğinin Araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 14.03.07

Jüri Başkanı Prof.Dr.Ömer ÇOLAK İmza
Biyokimya Anabilim Dalı

Üye Prof.Dr.Mine İNAL İmza
Biyokimya Anabilim Dalı

Üye Doç.Dr.Güngör KANBAK İmza
Biyokimya Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun
.....Tarih ve/.... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Erol GÖKTÜRK
Dekan

ÖZET

TUNALI, NT. Jinekolojik Kanserli Hastalarda CoQ10'un Tedavi Edici Etkinliğinin Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2007.

Bu çalışmada, radyoterapi alan endometrium kanserli hastalarda, "radyasyonla indüklenen oksidatif hasara karşı koenzim Q₁₀' un (CoQ₁₀) koruyucu etkisi"

incelendi. Bu amaçla kontrol (n=10), radyasyon (n=9) ve [Radyasyon+CoQ₁₀] (n=8) grupları oluşturuldu. Radyoterapi 45 Gray (Gy) (1,8 Gy/gün) dozunda, her hafta 5 fraksiyon şeklinde, 5 hafta boyunca uygulandı. [Radyasyon+CoQ₁₀] grubundaki hastalar radyasyonla birlikte 5 hafta boyunca günlük 400 mg dozda CoQ₁₀ aldılar. Kan örnekleri radyoterapi öncesinde ve radyoterapi sonrasında olmak üzere iki kez alındı. Eritrosit glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktiviteleri, plazma malondialdehit (MDA), koenzim Q₁₀ seviyeleri ölçüldü. Radyasyon grubunda ölçülen GPx ve SOD aktiviteleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun GPx ve SOD aktiviteleri radyasyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Radyasyon grubunda ölçülen eritrosit CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre düşük bulundu; fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi. [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun CAT aktiviteleri radyasyon grubuna göre yüksek bulundu; fakat bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı değildi. Radyasyon grubunda ölçülen plazma MDA düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun MDA düzeyi radyasyon grubuna göre düşük bulundu; fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi. Radyasyon grubunun plazma CoQ₁₀ düzeyleri [Radyasyon+CoQ₁₀] grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. Sonuç olarak çalışma bulgularımız, radyoterapi uygulanan endometrium kanseri hastalarında oksidan stresin arttığını göstermiştir. Koenzim Q₁₀, radyoterapi ile artan oksidan stresi azaltmaktadır. Bu nedenle, radyasyon tedavisi gören kanserli hastalara koenzim Q₁₀ verilmesinin, radyoterapiye bağlı komplikasyonların önlenmesi açısından klinik yararının olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Radyasyon, oksidatif stres, koenzim Q₁₀, serbest radikaller, endometrium kanseri.

SUMMARY

TUNALI, NT. Investigation of theopatic effectt of coenzymeQ₁₀ on the Gynecologic cancer patients, Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine. Medical Speciality Thesis in Department of Biochemistry, 2007.In this study, the preventive effect of coenzyme Q₁₀ on the radiation-mediated oxidative stres was investigated in the endometrium cancer patients. In this purpose, control (n=10), radiation (n=9) and [Radiation +CoQ₁₀] (n=8) groups were created. In the radiotherapy and radiation plus Q10 groups, radiotherapy 45 Gray (Gy) (1.8 Gy/day) every week five fraction was administrated during 5 weeks. [Radiation +CoQ₁₀] group patients took CoQ₁₀ daily 400 mg with radiation during 5 weeks. Blood samples were taken two times before and after radiotherapy. Erythrocyte glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) and catalase(CAT) enzyme activities and plasma malondialdehyde (MDA) and coenzyme Q₁₀ levels of these samples were determined. GPx and SOD activities in the radiation group were significantly decreased as compared to the control group. Besides, GPx and SOD activities of [Radiation +CoQ₁₀] group were higher than the radiation group. Erythrocyte catalase activities in the radiation group were low as compared to control group. But, this decreased levels were not statistically significant. In the [Radiation +CoQ₁₀] group, CAT activities were higher than the radiation group. But this increased levels were not statistically significant. Plasma MDA levels in the radiation group were significantly high from control group. MDA concantrations of [Radiation +CoQ₁₀] group were low according to radiation group. But this decrease was not statistically significant. Plasma CoQ₁₀ levels of radiation group were low significantly different from CoQ₁₀ therapy group. In conclusion, our findings show that oxidative stress were increased in the endometrium cancer patients taking radiotherapy. Coenzyme Q₁₀ were decreased radiotherapy mediated oxidative stress. Therefore, we think that radiotherapy plus CoQ₁₀ therapy might be useful cilinically against depending on complications of radiotherapy. Key words; Radiation, oxidative stress, coenzyme Q₁₀, free radicals, endometrium cancer.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	v
vi SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Serbest Radikaller	2
2.1.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Genel Özellikleri	2
2.1.2. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikaller	3
2.1.2.1. Süperoksid Anyon Radikali	3
2.1.2.2. Perhidroksi Radikal	3
2.1.2.3. Hidrojen Peroksid	4
2.1.2.4. Hidroksil Radikal	5
2.1.2.5. Singlet Oksijen	5
2.1.2.6. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri	5
2.1.2.7. Nitrik oksit	6
2.1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	7
2.1.3.1 Radyasyon ve Serbest Radikaller	8
2.1.4. Serbest Radikallerin Oluşturduğu Hasarlar	10
2.1.4.1 Membran Lipidleri Üzerine Serbest Radikallerin Etkisi	11
2.1.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkisi	12
2.1.4.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi	13
2.1.4.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkisi	13
2.2. Antioksidan Sistemler	14
2.2.1. Enzimatik Antioksidan Savunma	15
2.2.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)	15
2.2.1.2. Katalaz (CAT)	16
2.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	16
2.2.1.4. Glutasyon Transferaz	17
2.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma	17

2.2.2.1. Glutatyon	17
2.2.2.2. E Vitamini	17
2.2.2.3. C Vitamini (askorbik asit)	18
2.2.2.4.Karotenoidler	18
2.2.2.5. Melatonin	18
2.2.2.6. Koenzim Q ₁₀	18
2.3. Kanser	23
2.3.1. Kanserin Tanımı, Nedenleri, Oluşumu	23
2.3.2.Başlama safhasına serbest radikallerin etkisi	26
2.3.3.Tümör ilerlemesi üzerine serbest radikallerin etkisi	26
2.3.4.Malign dönüşüm üzerine serbest radikallerin etkisi	26
2.3.5.Karsinogenezde antioksidan savunma sistemi	27
2.4. Endometrium Kanseri	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
3.1. Hastalar	30
3.1.1.Radyoterapi	32
3.1.2.İstatistik	32
3.2. Yöntemler	33
3.2.1. Eritrosit Glutatyon Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi	33
3.2.2. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	33
3.2.3. Eritrosit Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi	34
3.2.4. Plazma Malondialdehit Düzeylerinin Ölçümü	34
3.2.5. Plazma Koenzim Q ₁₀ Düzeylerinin Ölçümü	35
4. BULGULAR	36
4.1. Eritrosit Glutatyon Peroksidaz Aktiviteleri	36
4.2. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktiviteleri	37
4.3. Eritrosit Katalaz Aktiviteleri	38
4.4. Plazma Malondialdehit Düzeyleri	39
4.5. Plazma Koenzim Q ₁₀ Düzeyleri	40
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	49
KAYNAKLAR	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

CoQ ₁₀	: Koenzim Q ₁₀
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksid
CAT	: Katalaz
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik oksit
O ₂ ^{•-}	: Süperoksid radikali
•OH	: Hidroksil radikali
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
SOD	: Süperoksid dismutaz
γ- radyasyon	: Gama radyasyon
UV	: Ultraviyole
Gy	: Gray
8-OhdG	: 8-OH guanin

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1. Elektromanyetik spektrum	9
Şekil 2.2. Lipid peroksidasyon reaksiyonları	12
Şekil 2.3. Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif hasar	14
Şekil 2.4. CoQ' nun elektron transport zincirindeki yeri	19
Şekil 2.5. CoQ' nun yapısı	20
Şekil 2.6. Koenzim Q'nun sentezi	21
Şekil 2.7. Oksidanların karsinogenezdeki rolü	25
Şekil 4.1. Eritrosit glutatyon peroksidaz aktiviteleri	36
Şekil 4.2. Eritrosit süperoksit dismutaz aktiviteleri	37
Şekil 4.3. Eritrosit katalaz aktiviteleri	38
Şekil 4.4. Plazma MDA düzeyleri	39
Şekil 4.5. Plazma koenzim Q ₁₀ düzeyleri	40

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Oksidatif stres ile meydana gelen reaktif oksijen ürünleri	7
Tablo 2.2. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar	15
Tablo 2.3. Endometrium kanseri 1988 FIGO cerrahi evrelemesi	29
Tablo 2.4. Endometrial karsinomda FIGO'un 'Grade' tanımlaması	29
Tablo 3.1. Çalışmaya katılan hastalar ve yaşları	30
Tablo 3.2. Hastaların tümör tipleri, evre ve grade özellikleri	31
Tablo 4.1. Eritrosit glutatyon peroksidaz aktiviteleri	36
Tablo 4.2. Eritrosit süperoksit dismutaz aktiviteleri	37
Tablo 4.3. Eritrosit katalaz aktiviteleri	38
Tablo 4.4. Plazma MDA düzeyleri	39
Tablo 4.5. Plazma koenzim Q ₁₀ düzeyleri	40

1. GİRİŞ

Kanser; başlama, ilerleme ve malign dönüşüm basamaklarından oluşan uzun bir süreçtir. Serbest radikallerin bu süreçte yer aldığı ve tüm basamakları etkilediği bildirilmiştir (58). Endometrium kanseri kadın genital yollarının en sık rastlanan kötü huylu tümörüdür. Gelişmiş ülkelerde tüm jinekolojik kanserlerin yarısına yakınıni oluşturmaktadır (83).

Radyasyon uygulaması kanser tedavisindeki başlıca yöntemlerden biridir (21) ve radyoterapi Endometrium kanserli hastaların tedavisinde cerrahi tedavinin yanında uygulanan bir yöntemdir (85). Radyasyon, biyolojik etkilerini, hücredeki su moleküllerinin iyonizasyonu aracılığıyla oluşan süperoksit radikali (O_2^{\bullet}), hidroksil radikali ($\bullet OH$), singlet oksijen ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi aktif oksijen türleri ile gerçekleştirir (4, 59,60). Radyoterapinin malign hücre ve dokuları elimine etmede büyük yarar sağladığı kanıtlanmıştır, bunun yanı sıra normal hücre ve dokuların fonksiyonlarını da değiştirmektedir. Radyoterapiye bağlı pek çok biyokimyasal komplikasyonlar gelişmekte; normal hücre DNA'sında serbest radikallere bağlı hasar, hücre membranı yapısında ve immün sistemde değişiklikler bu komplikasyonlar arasında yer almaktadır. Kanserli hastalarda radyoterapi sırasında indüklenen serbest radikallere bağlı hasar artmaktadır (22).

Memeli hücreleri, hücresel oksidan hasarın minimize edilebilmesi için, hem enzimatik hem non-enzimatik antioksidan mekanizmalar tarafından dengelenirler (63,64) .

Koenzim Q, mitokondrial solunum zincirinde, NADH, süksinat dehidrogenaz ve sitokrom sistemi arasında elektron transportuna aracılık eden oksidatif fosforilasyonun önemli bir bileşenidir (48,50). Son yıllarda yapılan çalışmalarda CoQ'nun yalnızca solunum zincirinin esansiyel bir üyesi olmadığı, aynı zamanda güçlü bir antioksidan özelliğe de sahip olduğu gösterilmiştir (45,47).

Bu çalışmanın amacı, radyasyon terapisi gören endometrium kanserli hastalarda bir antioksidan olan koenzim Q_{10} 'nun tedavi edici ve radyoterapiye bağlı gelişen komplikasyonları önleyici etkisinin araştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

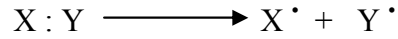
2.1. Serbest Radikaller

2.1.1.Serbest Radikallerin Tanımı ve Genel Özellikleri

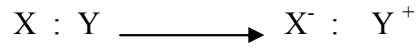
Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (1).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler (2).

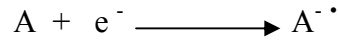
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler (2,3).

Normal metabolizma ürünleri şeklinde açığa çıkan serbest radikaller ayrıca enzimatik veya metal iyonlarının katalizlediği redoks reaksiyonları, otooksidasyon, fotoliz, organik maddelerin termal yıkımı, ksenobiyotik (CCl₄ gibi) metabolizması ve iyonize edici radyasyon sonucunda da oluşur (4,6).

Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (1).

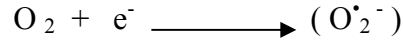
2.1.2. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Fakat organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında karbon ve kükürt merkezli radikallerde oluşmaktadır. Oksijenin elektronları o şekilde dağılmışlardır ki bu elektronların iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir 'diradikal' olarak da değerlendirilir.

Oksijen en son suya indirgenir. Bu arada kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilirler (1,2).

2.1.2.1. Süperoksid Anyon Radikali ($O_2^{\bullet -}$)

Tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksid radikal anyonu ($O_2^{\bullet -}$) meydana gelir (2).



Başlıca kaynağı mitokondri, endoplazmik retikulum (E.R) gibi hücresel elektron transport zincirlerinin çeşitli komponentlerden elektronların oksijene taşınması sırasında meydana gelen elektron sızıntısıdır (5).

Aktive olmuş fagositik hücreler makrofajların bütün tiplerinde ve monositler, nötrofiller, eozinofil'ler için gösterildiği gibi $O_2^{\bullet -}$ radikali üretirler. Radikal oluşumu, fagositlerde çeşitli bakteri zincirlerini öldürmede rol oynar (5,6).

Süperoksid, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksid kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (2).

2.1.2.2. Perhidroksi Radikali (HO_2^{\bullet})

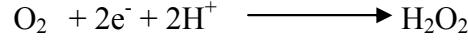
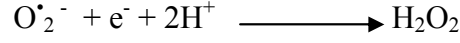
Düşük pH'da süperoksid anyonu protone olur ve daha aktif, okside ürün olan perhidroksi radikalini oluşturur. Zar fosfolipitleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksid radikali burada daha kolay bir şekilde proton alarak perhidroksi radikalini oluşturur (7).

HO_2^{\bullet} nin biyolojik sistemlerde sitotoksik rol oynadığına dair yeterli kanıtlar yoktur, fakat potansiyel önemi iki faktörden kaynaklanır :

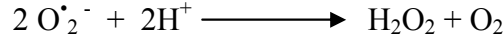
1. $O_2^{\bullet -}$ den daha az polardır ve biyolojik membranları H_2O_2 kadar hızlı geçebilir.
2. HO_2^{\bullet} , $O_2^{\bullet -}$ nin tersine yağ asitlerine direkt bağlanabilir ve linoleik, linolenik ve araşidonik asitle reaksiyona girerek peroksidleri oluşturabilir, bu nedenle $O_2^{\bullet -}$ den daha aktif olabilir. HO_2^{\bullet} nin LDL peroksidasyonunu başlatabildiği ileri sürülmüştür (5).

2.1.2.3. Hidrojen Peroksid (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 e^- alması veya $O_2^{\bullet -}$ 'in bir e^- alması sonucu oluşur.

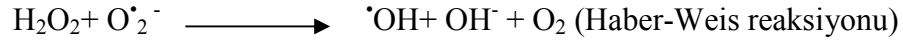
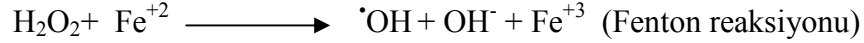
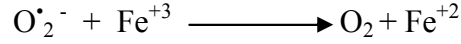


Hidrojen peroksit (H_2O_2), membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'in asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



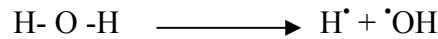
Bu dismutasyon ya spontandır ya da süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4.8'de en hızlıdır. Özellikle spontan dismutasyonun nisbeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH'da enzimatik dismutasyon daha belirgindir (2).

Hidrojen peroksit, eşleşmemiş elektron içermediğinden gerçek bir radikal değildir. Süperoksit anyon radikali veya geçiş metallerinin varlığında son derece toksik olan hidroksil radikalini oluşturur (2,5).

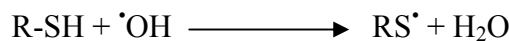


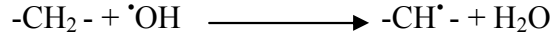
2.1.2.4. Hidroksil Radikali ($\bullet OH$)

Hidroksil radikali ($\bullet OH$), hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu ile) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur (2).



Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yarılma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara neden olur. Tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur (2).





DNA ile tepkimesi sonucu baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilir. Proteinlerde proteolitik yıkıma neden olabilirler. Hücre zarında lipid peroksidasyonunu başlatabilirler ve bu durumda zarın yapısı bozulur, geçirgenlik artarak hücrenin ölümüne neden olabilirler (7).

2.1.2.5. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşur (2).

Işığa maruz kalan lens veya kloroplast gibi bir çok pigmente sistemde singlet oksijen oluşur (5).

2.1.2.6. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri ($\text{ROO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$)

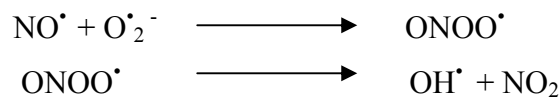
Poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında meydana gelirler, zincir reaksiyonunun ilerlemesine neden olurlar (6).

2.1.2.7. Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$)

Nitrik oksit, endotelde L-arginin amino asidinin oksitlenmesi ile oluşmaktadır. Bu olay nitrik oksit sentetaz adlı bir enzim tarafından gerçekleştirilmektedir (8).

Nitrik oksit bir serbest radikal molekülüdür ve bu yüzden diğer serbest radikallerle reaksiyona girme eğilimindedir (9).

Kimyasal olarak reaktivitesi yüksek değildir ancak belli şartlar altında toksik ürünler oluşturabilir. Nitrik oksit ve süperoksitin reaksiyona girmesiyle peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit direkt olarak proteinleri hasara uğratar ve hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$), azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$) gibi toksik ürünlere dönüşür (10).



Tablo2.1. Oksidatif stres ile meydana gelen reaktif oksijen ürünleri

BİLEŞİK		ÖZELLİKLERİ	YARI ÖMRÜ (37 ⁰)
$O_2^{\bullet -}$	Süperoksit anyonu	Bir elektron indirgenmiş form, birçok otooksidasyon reaksiyonunda oluşur (flavoproteinler, redoks siklusu gibi)	Spontan ve enzimatik dismutasyon
HO_2^{\bullet}	Perhidroksi radikali	$O_2^{\bullet -}$ 'nin protonlanmış formu, lipide çözünür	
H_2O_2	Hidrojen peroksit	İki elektron indirgenmiş form $O_2^{\bullet -}$, HO_2^{\bullet} den dismutasyonla veya direkt O_2 'den oluşur.	Stabil; enzimatik redüksiyon
HO^{\bullet}	Hidroksil radikali	Üç elektron indirgenmiş form, Fenton reaksiyonu, Haber-Weiss reaksiyonu ile oluşur, çok reaktiftir	10^{-9} sn

RO•	Alkoksil radikali	Oksijen merkezli organik radikal, lipid alkoksil radikali	10 ⁻⁶ sn
ROO•	Peroksil radikali	Organik (örn.lipid) hidroperoksitlerden; hidrojen ayrılmasından ROOH'dan oluşur	7 sn
ROOH	Organik hidroperoksit	Lipid hidroperoksit, timin hidroperoksit gibi	
O ₂ (O ₂ ¹)	Singlet oksijen	İlk uyarılmış form	10 ⁻⁶ sn
RO (RO*)	Uyarılmış karbonil	Uyarılmış karbonil, mavi-yeşil fotoemiyon sırasında oluşur	

2.1.3 Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik kaynaklar :

- Aktive olmuş fagositler
- Antineoplastik ajanlar (Nitrofurantoin, bleomisin, adriamisin, doxorubisin)
- Radyasyon
- Alkol ve uyuşturucular
- Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)
- Stres

Hücre içi kaynaklar :

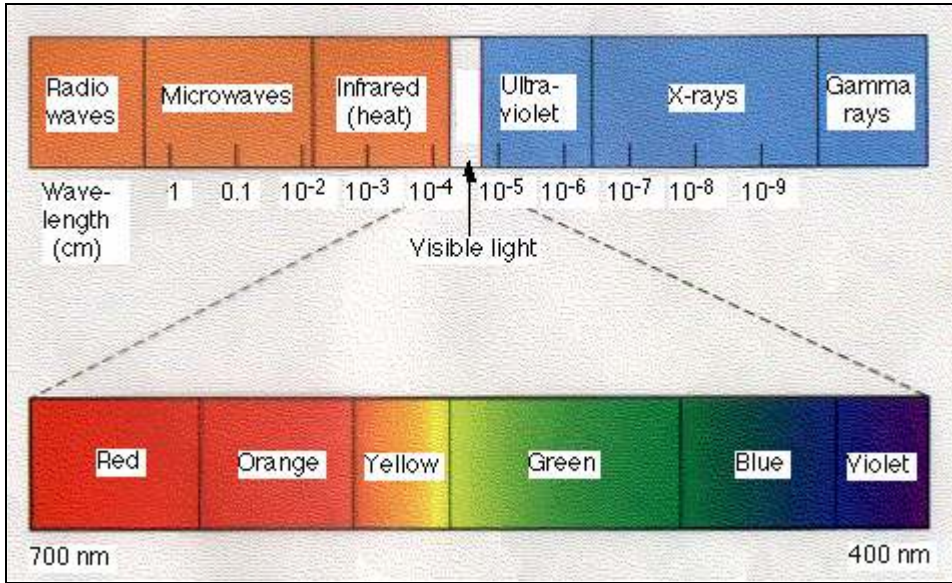
- Mitokondrial elektron transportu
- Küçük moleküllerin oksidasyonu (Tioller, hidrokinonlar, katekolaminler, antibiyotikler)
- Enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz)
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P450)
- Peroksizomlar (oksidazlar , flavoproteinler)
- Plazma membranı (Lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu)
- Oksidatif stres (İskemi, travma, intoksikasyon)

İyonize radyasyonun etkisi gibi nadir durumlar dışında, serbest radikaller genellikle hücrelerde elektron transfer reaksiyonlarıyla meydana gelirler. Normalde hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksid radikal üretimi artar (2).

2.1.3.1 Radyasyon ve Serbest Radikaller

Radyasyon, kısaca atomlardan enerji salınımı olarak tanımlanabilir. Bu salınım elektromanyetik titreşimler veya partiküller şeklindedir. Elektromanyetik radyasyonlar boşlukta titreşen enerjilerdir ve dalga boylarına göre ayrılarak elektromanyetik spektrumu oluştururlar (11).

Çarptığı maddede yüklü parçacıklar (iyonlar) oluşturabilen radyasyon 'iyonize radyasyon' olarak adlandırılır. X ve gama ışınları gibi elektromanyetik ışınları içerir. Gama radyasyon elektromanyetik spektrumun bir üyesidir (12,13,14).



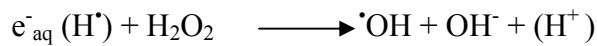
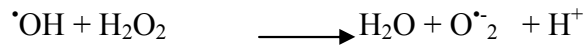
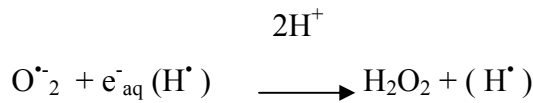
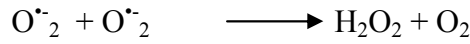
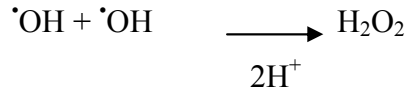
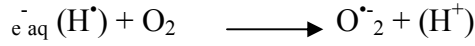
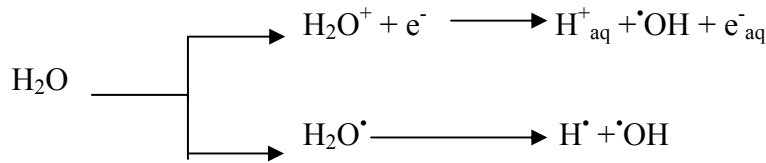
Şekil 2.1. Elektromanyetik spektrum.

İyonize radyasyonun moleküler düzeydeki etkileri doğrudan veya dolaylı yolla olur.

Doğrudan Etki: Radyasyon, enerjisini doğrudan biyolojik hedefe verebilir ve enerjisini doğrudan DNA veya enzim gibi biyolojik moleküllere aktararak, bunlarda hasar meydana getirir. DNA sentezinin süpresyonuna, kromozom kırılmalarına, protein ve lipidlerde oksidatif hasara neden olur (11,17).

Dolaylı Etki: Biyolojik moleküllerde hasarın meydana gelmesi serbest radikaller aracılığıyla olur. Bu etki hücrenin temel maddesi olan su moleküllerinde görülür (11,17). Hücrelerin iyonize radyasyona maruz kalması, süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($\bullet OH$), singlet oksijen (O_2) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) oluşumuna yol açar (18,19). Oluşan serbest radikallerin lipid peroksidasyon zincir reaksiyonları ve başta intestinal kanamalar olmak üzere miyokardial iskemi, karsinogenezis, katarakt oluşumu, solunum düzensizliği, DNA zincir kırılması, mutajenik ve karsinojenik etkiler oluşturduğu saptanmıştır (20).

İyonize radyasyon, aktif oksijen radikallerinin bir kaynağıdır (15). İyonize radyasyonun neden olduğu oksijen radikal reaksiyonları şu şekilde gösterilebilir (16):



Bu aktive olmuş oksijen radikalleri membran fosfolipidlerine saldırır ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar (4).

Radyasyon uygulaması kanser tedavisindeki başlıca yöntemlerden biridir(21). Radyoterapinin malign hücre ve dokuları elimine etmede büyük yarar sağladığı kanıtlanmıştır; ancak normal hücre ve dokuların fonksiyonlarını da değiştirmektedir. Radyoterapiye bağlı pek çok biyokimyasal komplikasyonlar gelişmekte; normal hücre DNA'sında serbest radikallere bağlı hasar, hücre membranı yapısında ve immün sistemde

değişiklikler bu komplikasyonlar arasında yer almaktadır. Kanserli hastalarda radyoterapi sırasında indüklenen serbest radikallere bağlı hasar artmaktadır (22).

Memeli hücreleri hem enzimatik hem de nonenzimatik kapsamlı ve düzenli antioksidan savunma sistemine sahiptir. Bu antioksidanlar serbest radikallerin zararlı etkilerini önlerler, dolayısıyla hücresel komponentler için koruyucu etki gösterirler (22,23).

2.1.4. Serbest Radikallerin Oluşturduğu Hasarlar

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (2,3, 24).

2.1.4.1 Membran Lipidleri Üzerine Serbest Radikallerin Etkisi

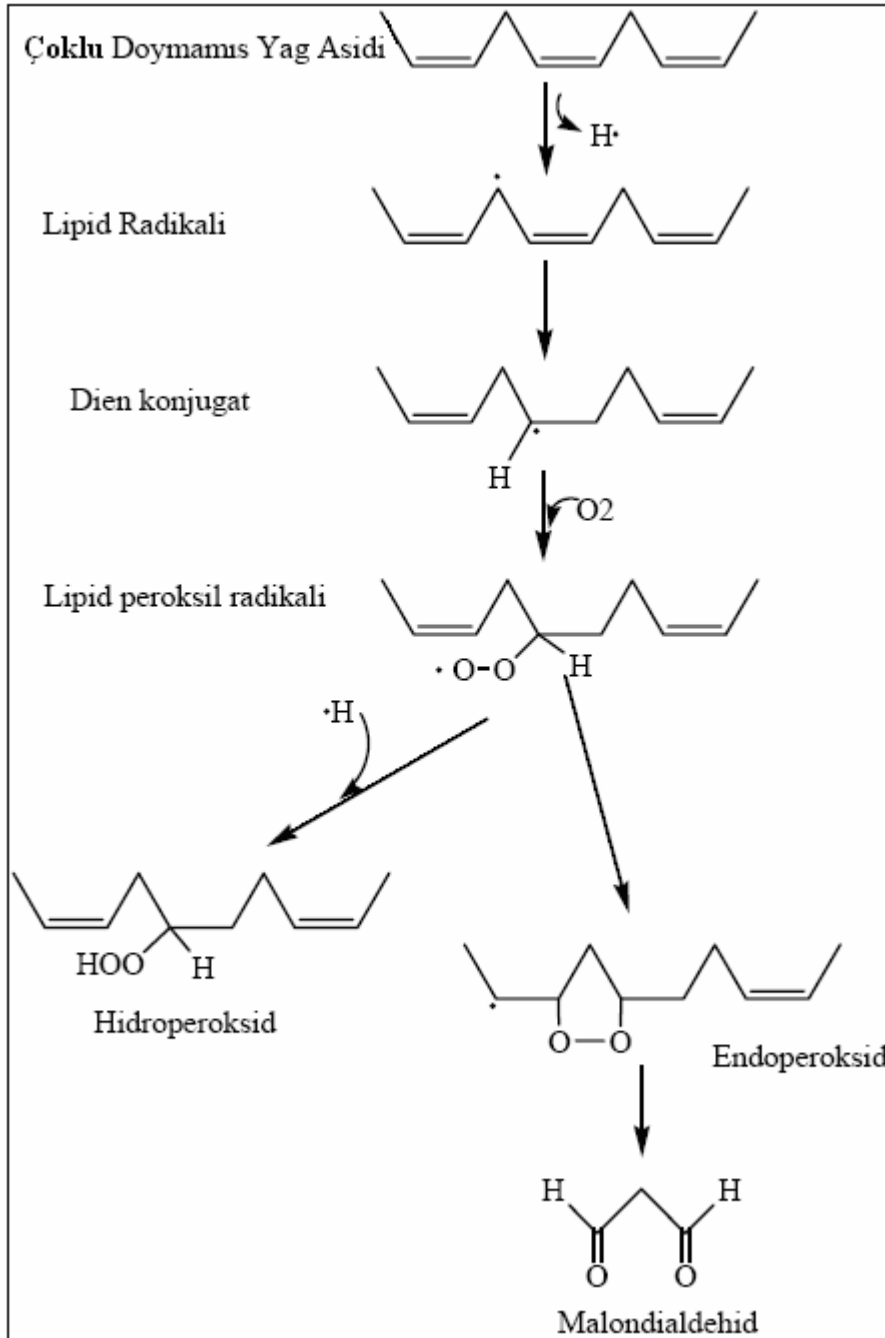
Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler; fakat lipidler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır (2). Radyasyon $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, singlet oksijen ve H_2O_2 gibi aktif oksijen türlerini üretir. Bu radikaller kolesterol esterlerine, membran fosfolipidlerine saldırırlar ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar (4).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugantları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (2).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sonlanır. Bu ürünlerin başlıcaları malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal 'dir. MDA lipid peroksidasyonun değerlendirilmesinde sık olarak kullanılır (1,25).

MDA ve 4-hidroksinonenal nükleik asitlerle reaksiyona girer, bu nedenle genetik değişime ve kanser gelişimine yol açabilirler (5).

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur (2). Lipid peroksidasyonunun; zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile zar işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur (2,25).



Şekil 2.2. Lipid peroksidasyon reaksiyonları

2.1.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkisi:

Proteinler serbest radikal etkilerine lipidlere oranla daha az hassastır (2). Proteinlerin, serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceği amino asit kompozisyonlarına bağlıdır (26). Doymamış bağ ve kükürt ihtiva eden moleküllerin serbest radikaller ile reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler (2). Serbest radikaller amino asitlerin oksidasyonu yanında, peptid bağlarının hidrolizi, disülfit bağları oluşumu ve çapraz bağlanmalara yol açabilirler (25).

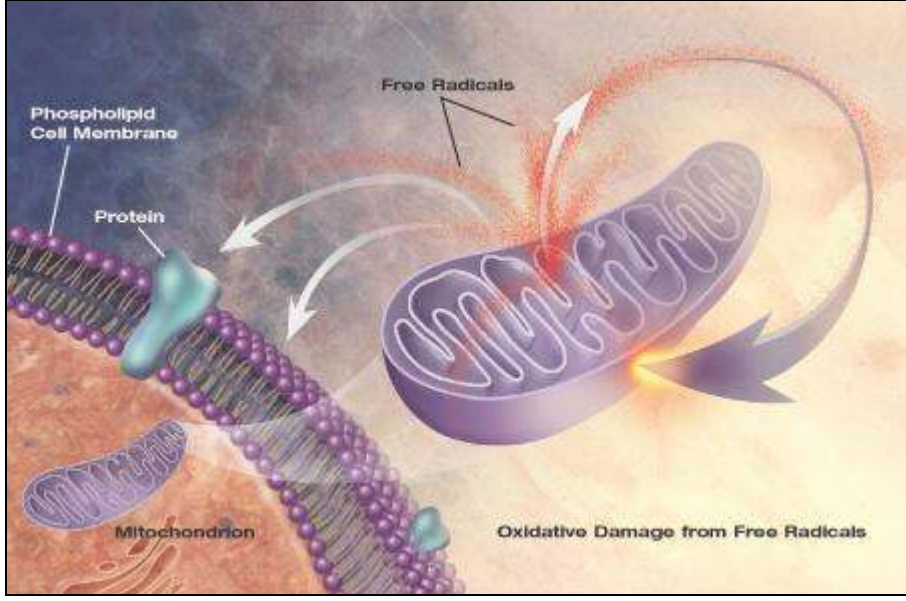
Protein hasarının boyutları, proteinin hücrel yerleşimine ve radikalın toksisite gücüne göre değişebilir (25).

2.1.4.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler oluşurlar. Bunlar diabetes mellitus gibi kronik hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynarlar. Oksoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (2,27,28).

2.1.4.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkisi

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede lezyonlara, mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksosite, büyük oranda, ya nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine, ya da DNA daki diğer bozukluklara bağlıdır (2,26). Sonuçta sitotoksosite, mutasyon ve malign değişim potansiyeli oluşur (29).



Şekil 2.3. Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif hasar

2.2. Antioksidan Sistemler

Reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “**antioksidan savunma sistemleri**” veya kısaca antioksidanlar olarak bilinirler (2). Antioksidanlar lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA gibi hedef moleküllerin oksidan hasarını önler veya geciktirirler (30). Antioksidanlar, radyasyonun indüklediği hasarlara karşı koruyucudurlar (16).

Antioksidanların etkileri şöyle sınıflandırılır :(2, 31)

- 1- Reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunun engellenmesi
- 2- Reaktif oksijen ürünlerinin enzimatik olarak ya da doğrudan temizlenmesi
- 3- Radikal oluşumunun sonlandırılması
- 4- Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri

Antioksidan savunma enzimatik ve non-enzimatik antioksidan olmak üzere ikiye ayrılır (2,32) (Tablo 2.2).

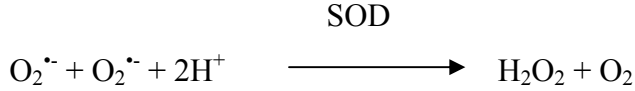
Tablo.2.2. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
Süperoksid dismutaz	Glutasyon	Transferin
Katalaz	α -tokoferol	Seruloplazmin
Glutasyon peroksidaz	Askorbat	Flavonoidler
Glutasyon transferaz	β -karoten	Albumin
Glutasyon redüktaz	Ubikinonlar	Melatonin

2.2.1. Enzimatik Antioksidan Savunma

2.2.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Süperoksid anyon radikalinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (2,33) .



Enzimin fizyolojik fonksiyonu ; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksid serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Süperoksid dismutaz aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksid üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksid düzeyleri düşük tutulur(2).

Süperoksid dismutaz'ın 3 izoenzimi bulunmaktadır.

- Sitolitik Cu/Zn- SOD
- Mitokondrial Mn-SOD
- Ekstraselüler SOD (EC-SOD)

Cu/Zn- SOD formunun antioksidan savunmanın ilk aşamasında majör bir rol oynadığına inanılmaktadır. Genel olarak hücrede en çok bulunan izomer Cu/Zn- SOD 'dur. Mn içeren formu ise yaşam için esansiyeldir. EC-SOD tetramerik Cu ve Zn içeren bir glikoproteindir. EC-SOD, dokuların interstisiyel boşluklarında ve ekstrasellüler sıvılarda

bulunmuştur. Plazma, lenf, sinovial sıvıdaki SOD aktivitesinin büyük bir kısmından sorumludur (2,34).

2.2.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, yapısında 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Görevi, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksizomlarda lokalizedir (2,34).



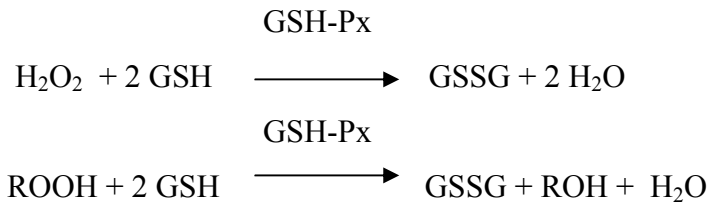
Ayrıca katalaz, düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında alkol ve askorbatı kullanarak peroksidaz aktivitesi gösterebilir (35).

Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksit, metil ve etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü hidroperoksitlere ise etki etmez (36).

2.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir. Tetramerik yapıda, dört selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir.

GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksid ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar (2,35).



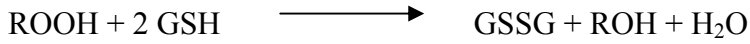
Oluşan okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar redükte glutatyona dönüşür (37).



2.2.1.4. Glutasyon Transferaz

Dimerik yapıdadır. Çok sayıda izoenzimi bulunmaktadır. Ksenobiyotiklerin biotransformasyonunda önemli rol alırlar. Selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi

gösterirler ve araşidonik asit ile linoleik asit hidroperoksitlerinin metabolizmasını sağlarlar (2)



2.2.2.Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma

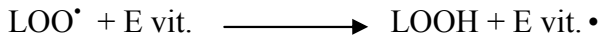
2.2.2.1.Glutatyon

Redükte glutatyon (GSH), başta karaciğerde olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan ve glutamik asit, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptittir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (38). Proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece, proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (2).

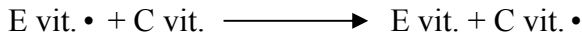
İndirgenmiş glutatyon (GSH), GSH-Px 'ın katalizlediği reaksiyonla yükseltgenmiş glutatyona (GSSG) dönüşür. GSSG'nin tekrar indirgenmesi NADPH'ın kullanıldığı glutatyon redüktaz enzimi ile olur (37).

2.2.2.2.E Vitamini

E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan güçlü bir antioksidandır (2). Lipofilik bir moleküldür.Membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur. Peroksil radikalleriyle reaksiyona girerek zincir kırıcı bir etkiyle lipid peroksidasyonunu önler.



Oluşan tokoferol radikali (E vit[•]) daha az reaktiftir ve C vitamini tarafından E vitaminine dönüştürülür (10) .



2.2.2.3.C Vitamini (askorbik asit)

C vitamini organizmada bir çok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır (2). Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar (39).

E vitaminin rejenerasyonunda görev alır, tokoferoksil radikalının α-tokoferol'e indirgenmesini sağlar. E vitaminiyle birlikte etkin bir şekilde düşük dansiteli lipoprotein (LDL) 'i oksidasyona karşı korur (35).

2.2.2.4. Karotenoidler

A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karoten'in singlet oksijeni baskıladığı, süperoksit radikalini ve peroksit radikallerini temizlediği bildirilmiştir (2).

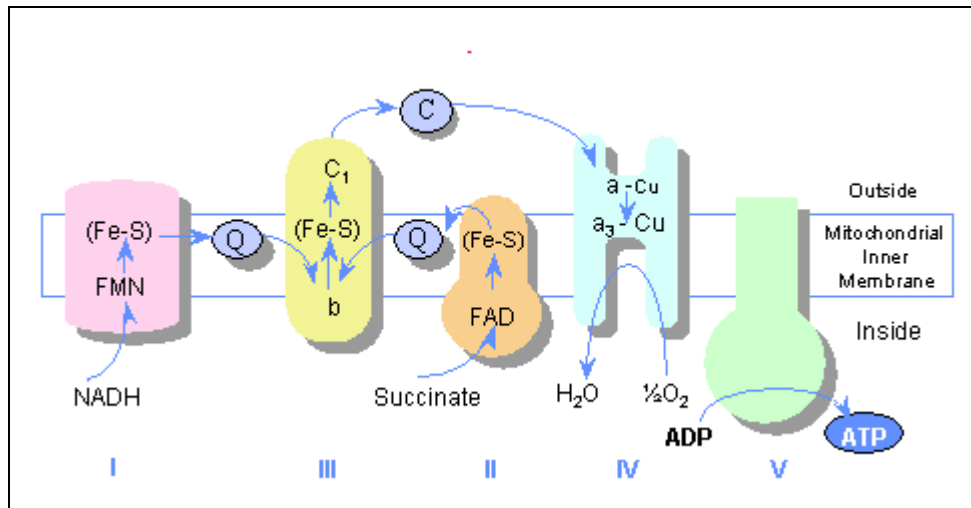
β -karoten ve likopen gibi retinoidler LDL yapısında yer alır ve LDL'yi oksidasyona karşı korur (40).

2.2.2.5. Melatonin

Melatonin pineal bez tarafından sentezlenen endojen bir bileşiktir ve antioksidan defans sisteminde önemli bir rol oynamaktadır (41,42). En zararlı radikal olan $\cdot\text{OH}$ radikalini ortadan kaldıran güçlü bir antioksidandır. Melatoninin antioksidan olarak diğer önemli bir özelliği de lipofilik olmasıdır (2).

2.2.2.6. Koenzim Q₁₀

Koenzim Q (CoQ) veya diğer adıyla ubikinon nonprotein, izoprenoid yan zinciri olan bir kinon molekülüdür. Mitokondrial elektron transport zincirinin önemli bir bileşenidir. NADH dehidrogenaz ve süksinat dehidrogenaz ile sitokrom sistemleri arasında bulunan lipofilik bir elektron taşıyıcısıdır (43,44,45).

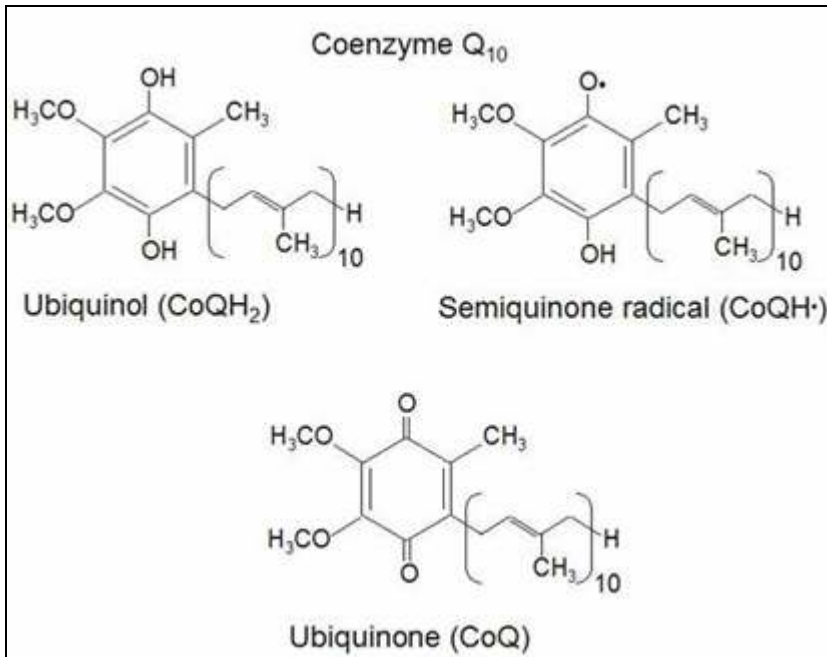


Şekil 2.4. CoQ'nun elektron transport zincirindeki yeri

Ubikinonlar bir kinon halkası ve izoprenoid yan zincirinden oluşan bileşiklerdir. Prenil yan zincir uzunluğuna göre adlandırılırlar. Koenzim Q₁₀, yan zincirinde 10 prenil ünitesi içeren kinon bileşiğidir. Açık adı 2,3 dimetoksi-5-metil-6 poliprenil-1,4-benzokinondur (43,46,47).

Kinon halkası üç farklı redox durumunu yansıtır.

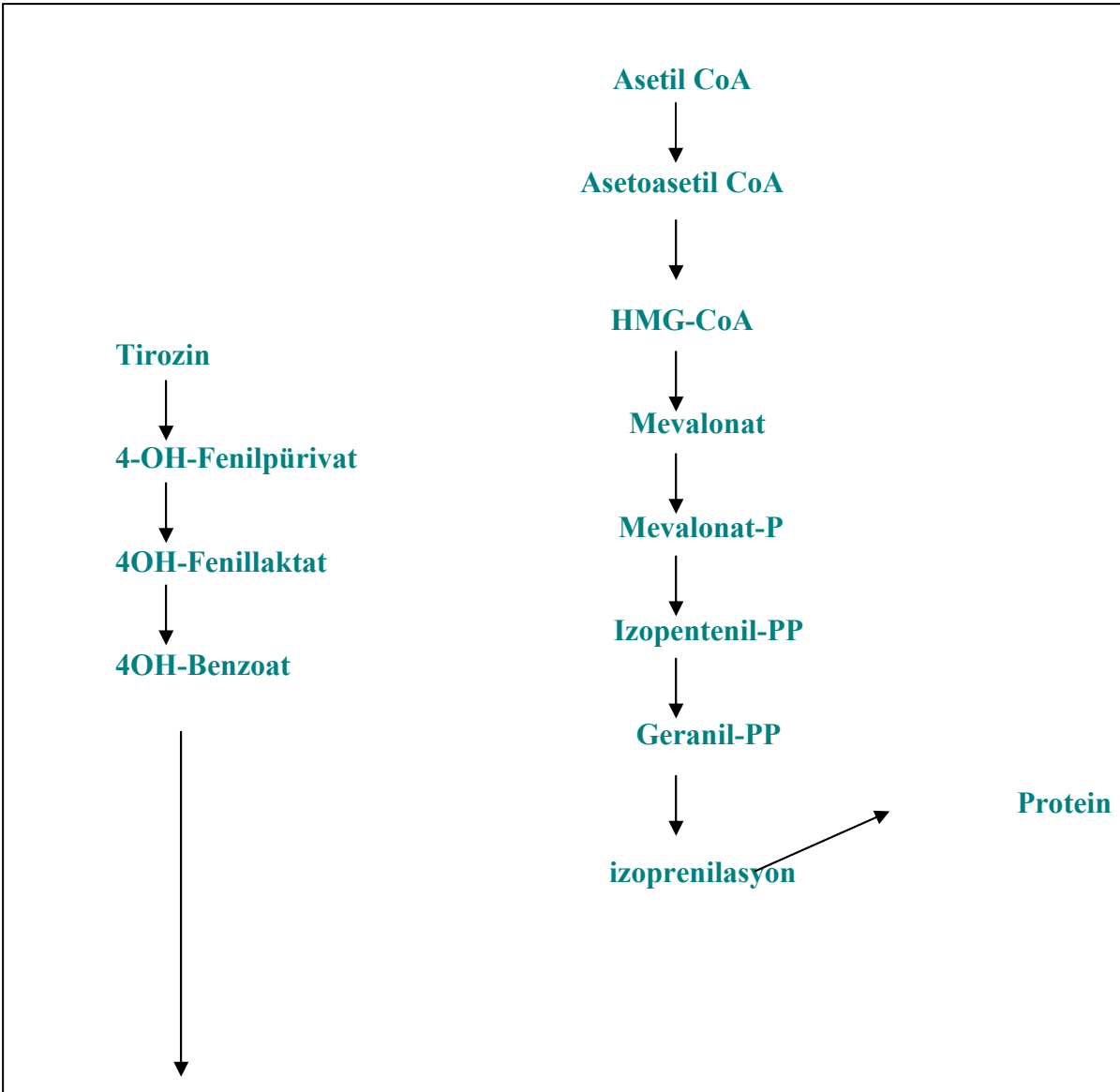
1. Ubikinon (Q) : Tam okside form
2. Ubisemikinon (QH[•]) : Yarı redükte form
3. Ubikinol (QH₂) : Tam redükte form

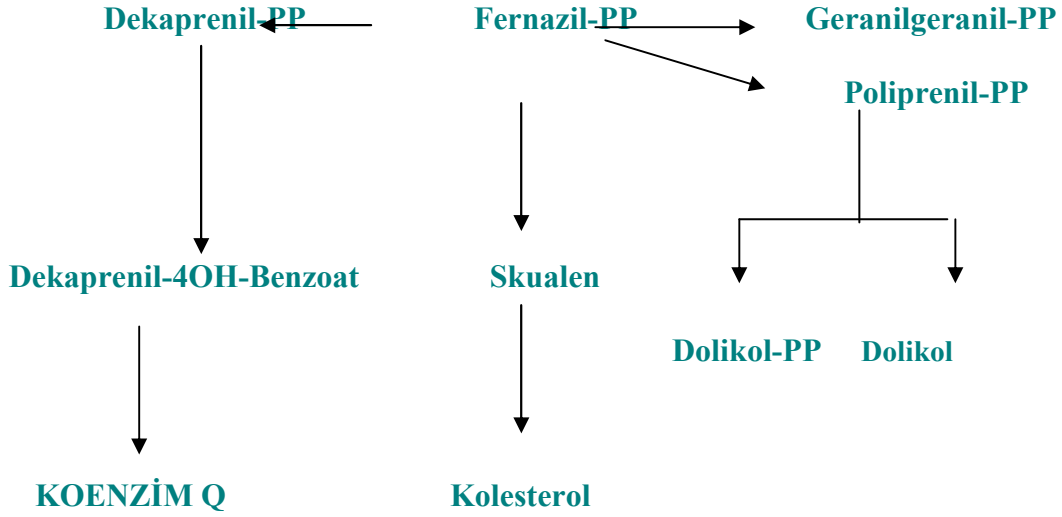


Şekil 2.5.CoQ' nun yapısı

CoQ₁₀ ' un hücrede bir çok fonksiyonel rolü vardır.Bu rollerin bazıları şunlardır.

1. CoQ₁₀ 'un en iyi tanımlanan fonksiyonu kinon formudur. Mitokondrial transport zincirinde Kompleks I ve II'den Kompleks III'e elektron transferini sağlar.
2. CoQ₁₀ 'un redükte formu olan ubikinol, etkili bir intrasellüler antioksidan olarak fonksiyon gösterir.
3. Ubisemikinon formu ise mitokondrial solunum süresince süperoksit anyon radikallerinin oluşumunda rol alır (46).





Şekil 2.6. Koenzim Q'nun sentezi

Memeli hücrelerinde ubikinon sentezi iki metabolik yolla gerçekleşir, poliprenil yan zincirinin sentezi ve 6 karbonlu kinon halkasının oluşumu. Tirozin ve fenil alanin, kinon halkasının öncül amino asitleridir. Bu amino asitler bazı basamakların sonucunda 4-hidroksi benzoat'a dönüştürülür. Poliprenil yan zincir ise farnezipirofosfat oluşumu ile sonuçlanan ve mevalonat yolu olarak adlandırılan bir reaksiyon dizisi sonunda asetil CoA'dan meydana gelir. Farnezipirofosfat dekaprenil pirofosfata dönüştükten sonra 4-hidroksi benzoat ile birleşerek dekaprenil 4-OH benzoatı ve birkaç basamak sonra koenzim Q'yu oluşturur. Farnezipirofosfat, aynı zamanda kolesterol ve dolikolün de ön maddesidir (48).

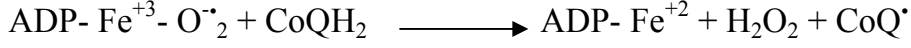
Koenzim Q sentezi endoplazmik retikulum'da başlar ve golgide tamamlanır. En çok mitokondride bulunur. Hayvan hücrelerinde koenzim Q'nun mitokondriye ek olarak endoplazmik retikulum, golgi, lizozom, peroksizom ve plazma membranında da yer aldığı gösterilmiştir. Sınırlı miktarda olsa da, plazma membranından kana salınır ve plazma lipoproteinlerine bağlanır. Kolesterolün tersine koenzim Q, dolaşım ile farklı dokulara dağılım göstermez. Dokulardaki turnover hızı, 50-125 saat arasındadır. Ubikinon içeriği artan yaşla birlikte azalmaktadır (48).

Eksojen alınan koenzim Q₁₀ karaciğerde metabolize olur. Yıkımı ile ilgili mekanizmalar hakkında nisbeten az şey bilinmektedir. Başlıca eliminasyonu safra yoluyla olmaktadır (49).

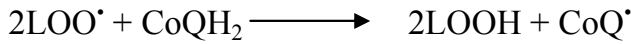
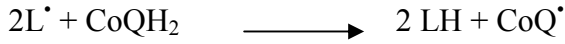
Koenzim Q'nun redükte formu olan ubikinolün submitokondrial partiküllerde lipid peroksidasyonunun güçlü bir inhibitörü olduğu saptandı. CoQ'nun lipid peroksidasyonu

üzerindeki direkt etkisi, lipid radikali veya lipid peroksil radikallerini yakalamasına bağlı olabilir. Ubikinol, Vit E'nin redükte formunun devamlılığını sağlayarak da lipid peroksidasyonunu inhibe edebilir (48).

Redükte Koenzim Q, ADP-perferil radikalleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonun başlangıç safhasını inhibe edebilir.



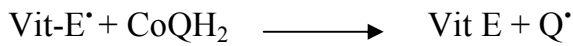
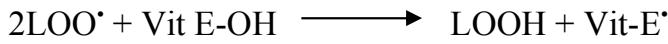
Redükte CoQ aynı zamanda lipid ve peroksil radikalleriyle reaksiyona girerek ilerleme safhasını önleyebilir (50,51,52).



CoQH₂ aynı zamanda süperoksitle direkt olarak reaksiyona girebilir.



Ayrıca ubikinol, LOO[•]'yu direkt olarak yada α-tokoperoksil radikalinden vit E'yi rejenere ederek indirekt yolla lipid peroksidasyonu elimine edebilir (53).



ve böylece lipid peroksidasyonunun çoğalmasını engeller (48,53,54).

2.3. KANSER

2.3.1. Kanserin Tanımı, Nedenleri, Oluşumu

Kanser, aberant hücrelerin kontrollü olmayan çoğalması, lokal dokulara invazyon ve metastaz ile karakterize bir hastalık sınıfı olarak tanımlanır. Tüm dünyada ölüm nedenleri arasında kardiovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer alır (56). Her yıl 1.2 milyon kanser tanısı konmakta ve her yıl 600.000 kişi kanserden ölmektedir (21).

Karsinogenezde rol oynayan faktörler şunlardır (56,57) :

- 1- Radyasyon : UV, X ışınları, γ ışınları
- 2- Kimyasallar : Benzen ve asbestoz gibi maddelere maruz kalmak, dietle aflatoksin B, N-nitrozo bileşikleri alımı, sigara içimi, alkol alımı, çevresel kirlilik, ilaç alımı (DES, O.C. gibi)
- 3- Genetik duyarlılık
- 4- Viral ajanlar

Karsinogenezisin çok basamaklı (multistep) oluş kavramı ilk olarak 1940 yıllarında kemirgen deri modellerinde geliştirilmiş ve bir çok kanser türü ve hücre tipine uygulanarak gösterilmiştir (58).

Kanser oluşumu 3 farklı basamakta gerçekleşir :

1-Başlangıç (Initiation)

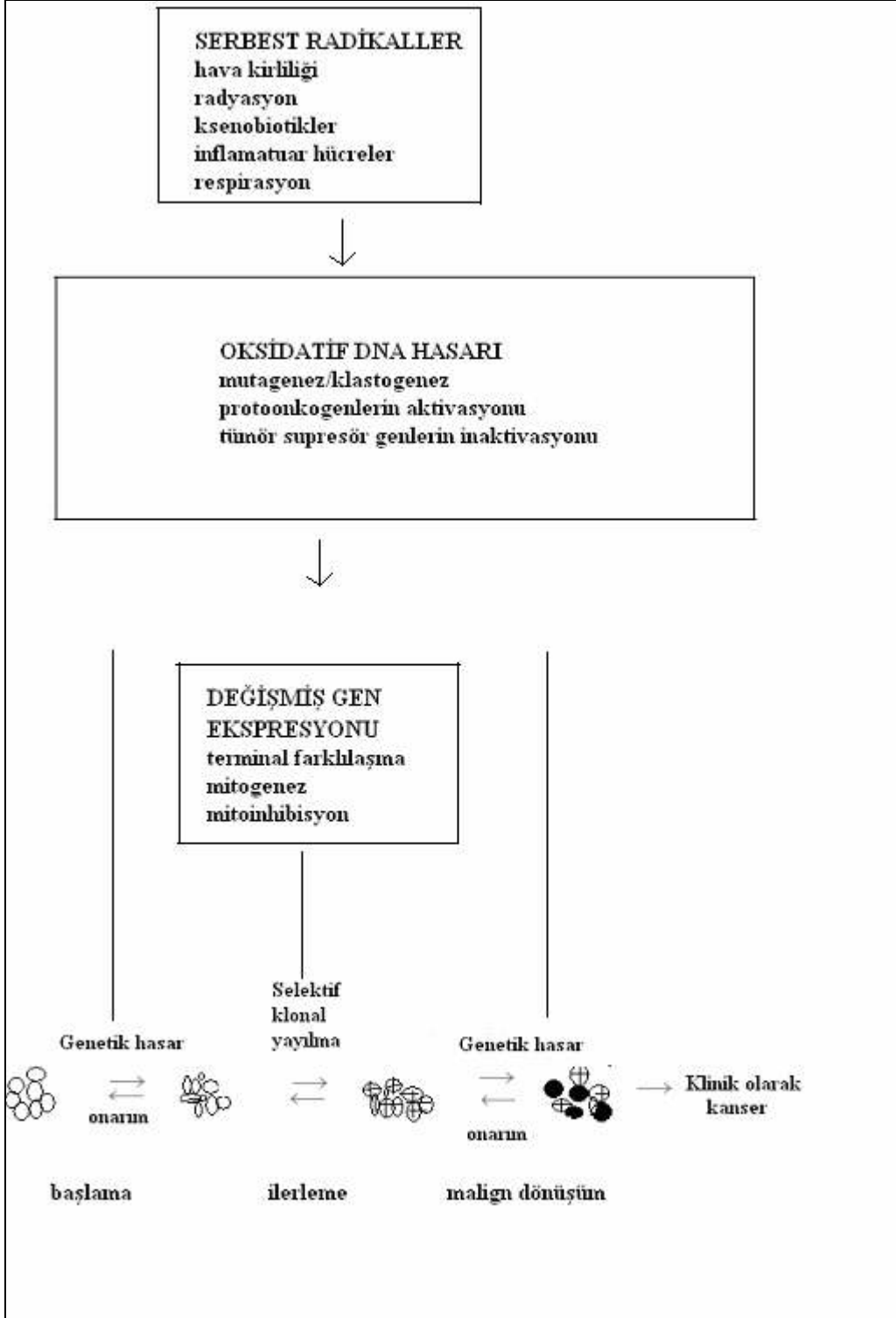
2-İlerleme (Promotion)

3-Malign dönüşüm (Malign Conversion)

Başlangıç evresinde, tek bir somatik hücre, öldürücü olmayan kalıtsal bir mutasyona uğrar. Büyüme ve farklılaşmayı kontrol eden hücrel mekanizmadaki bu mutasyon, başlangıç evresinde genetik tipin değişikliğine yol açar. Başlangıç mutasyonu, ikinci evre olan ilerleme evresi için büyüme avantajı sağlayabilir. Mutasyona uğrayan bu hücre ikinci evre olan ilerleme evresinde normal hücrelere zıt olarak hücre içi ve hücre dışı sinyallere cevap vermede hücrel kontrol mekanizmasından kaçabilir. Aynı zamanda başlangıç hücresinin bir tümör ilerleticisine maruz kalması yine hücrenin, hücre içi ve hücre dışı sinyallere farklı cevap oluşturmasını uyaracak, büyümeyi stimüle edecek fakat normal hücre popülasyonunda bunu yapmayacaktır. Tümör ilerleticisinin başlangıç hücresini doğrudan uyarması veya çevredeki normal hücreleri dolaylı olarak etkilemesi ile klonal büyüme sağlanır. İkinci evre olan ilerleme evresi tümörün benign büyümesini sağlar ancak üçüncü basamak olan malign dönüşüm, kansere dönüşüm evresidir. Başlangıç evresi gibi bu evre de hücrel büyümenin daha fazla bozulduğu genetik değişiklik gerektirir ve bu kontrol edilemez şekilde ilerler (58) .

Oksidatif stres, mutagenite ve sitotoksiteye yol açabilir, dolayısıyla gen yapısında değişiklikleri uyarabilir. Oksidanlar ile oluşan mutasyonlar, karsinogenezisi başlatabilir. Genetik materyalin oksidatif mekanizmalarla değişikliği, benign yapıdan malign neoplazma gidişe katkıda bulunabilir(58).

Oksidatif stres bazı genlerin aktifleşmesine sebep olur, böylece serbest radikaller onkogenleri aktive ederek hücre çoğalmasını artırırlar. Hücre çoğalması ve farklılaşmasında rol alan transkripsiyon faktörlerini kodlayan c-myc, c-jun ve b-aktin genleri ile bir transkripsiyon faktörü olan NFkB geni serbest radikaller tarafından aktifleştirilirler. Tümör supressör genlerinin serbest radikaller tarafından inaktive edilmesi karsinogenezisin başlamasına sebep olabilir (2).



Şekil 2.7.Oksidanların karsinogenezdeki rolü

Bakterilerde oksijenin oluşturduğu mutajenite ilk olarak bundan yaklaşık 30 yıl önce gösterilmiştir. Fenn ve arkadaşları, oksijen mutajenitesinin serbest radikal konsantrasyonunun artması sonucu oluşan kromozom hasarına bağlı olabileceği hipotezini ortaya atmıştır. Bugün

ise geniş ölçüde kabul gören görüş, oksijenin mutajenik kapasitesinin, oluşan hidroksil radikalının DNA'da yarattığı hasara bağlı olduğu şeklindedir (58). Bir çok kanıt, H₂O₂ ve süperoksit (O₂⁻)'in geçiş metalleriyle etkileşimi esnasında hidroksil radikalının oluştuğunu ve bunun DNA hasarına yol açtığını savunmaktadır (80). Oksidatif stres; lipid peroksidasyon ürünleri ile saldırı gibi sekonder mekanizmalarla da DNA'da mutajenik lezyonları indükler (81).

2.3.2.Başlama safhasına serbest radikallerin etkisi

Başlama safhası, hücredeki genetik materyal üzerinde sürekli modifikasyonlar gerektirir. DNA modifikasyonları spesifik ve nonspesifik onarım sistemleri ile sürekli tamir edilir. Ancak bir kısmı, onarım sistemlerinin etkisinden kurtularak mutajenik bir potansiyel oluşturur. Serbest radikallerin artışı ile onarım sistemleri yetersiz kalır ve mutasyon meydana gelir (58).

En sık rastlanan oksidatif baz modifikasyonu 8-OH guanin (8-OHdG) dir. Guaninin oksidasyon ile kimyasal modifikasyonu DNA'da bu bazın konfigürasyonunu etkiler ve baz çiftinin özelliklerini değiştirir. DNA'nın replikasyonu boyunca bu bazı içeren yapının doğruluğunu tehlikeye sokar (58).

2.3.3.Tümör ilerlemesi üzerine serbest radikallerin etkisi

Serbest radikaller, mutant hücre klonlarının yayılımına ve proliferasyonuna neden olur. Serbest radikallerin, radyasyon ve kimyasalların başlattığı karsinogenezde promotör etki gösterdikleri bildirilmiştir. Tümör ilerlemesine neden olan gen ekspresyonunda değişiklikleri uyarabilirler (58).

2.3.4.Malign dönüşüm üzerine serbest radikallerin etkisi

Hızlı büyüme, immün kontrolden çıkma, invazyon ve metastaz son safhada yer alır. Bu safhada, daha fazla DNA hasarı meydana gelir ve benign tümörler hızla malign neoplazmalara dönüşürler. Benignden kansere dönüşüm için mutlak bir başlatıcıya gerek vardır. Bu başlatıcı ajan, direkt DNA baz modifikasyonu veya genetik materyalin transpozisyonuna neden olur. Tümör hücrelerinde serbest radikal oluşumunun artması, oksidatif stresin devamlı ve kalıcı olmasına neden olur, genomik stabilite kaybolur (56,82). Serbest radikallerle ilgili genomik stabilitenin kaybında p53 mutasyonları önemli bir rol

oynar. p53 gen mutasyonu olan hücrelerde DNA lezyonları onarım sistemi ile ortadan kaldırılamaz, kontrolsüz hücre bölünmesi gelişir (82).

2.3.5.Karsinogenezde antioksidan savunma sistemi

Hasar verici ürünler, antioksidan enzimler veya yakalayıcılar tarafından DNA da değişiklik oluşturmadan uzaklaştırılır. Karsinogenezin antioksidanlar tarafından önleme mekanizmaları (82) :

1-Antiinitiator etki (başlamayı inhibe edici etki) : Karsinojenlerin DNA ile etkileşen ve gen mutasyonu ile sonuçlanan serbest radikal veya elektrofillere metabolik aktivasyonunun önlenmesi.

2-Antipromotor etki(ilerlemeyi inhibe edici etki) : Oksidatif DNA hasarının ve hücre proliferasyonunun azaltılması .

3-Antioksidan metabolitler tarafından karsinogenez indüksiyonuna rezistans gelişimi

4-Oksidatif strese adaptif yanıt

5-Antioksidanların antinitroze edici etkisi.

2.4. Endometrium Kanseri

Endometrium kanseri kadın genital yollarının en sık rastlanan kötü huylu tümörüdür. Gelişmiş ülkelerde tüm jinekolojik kanserlerin yarısına yakınıni oluşturmaktadır (83). Genelde ortalama olarak 60 yaş civarında görülür ve %70'lik kısmı menopozdan sonra görülmektedir (84). Endometrium kanserlerinin çoğunun gelişiminde östrojenin rolü olduğu açıkça ortaya konulmuştur; progesteron ile karşılanmamış östrojene maruz kalmayı arttıran tüm faktörler endometrium kanseri riskini artırır (83).

Risk faktörleri olarak ; diabetes mellitus, hipertansiyon, nulliparite, obesite, erken menarj, geç menopoz, uzun süre endojen östrojene maruz kalma, eksojen karşılanmamış östrojen kullanımı sayılabilir (84).

Endometriumdan kaynaklanan kanserlerin histolojik tipleri; endometrioid adenokarsinom, papiller seröz karsinom, berrak hücreli karsinom, skuamöz karsinom, miks tip karsinom ve indifferansiye karsinomdur (83).

Endometrial kanserli hastalarda FIGO'un 1988'de bildirdiği ve tablo 2.3.' de sunulan evreleme sistemine göre evreleme yapılmaktadır ve FIGO'nun grade tanımlaması tablo 2.4.' de yer almaktadır (85).

Tablo 2.3. Endometrium kanseri 1988 FIGO cerrahi evrelemesi

Evre Ia	G 1,2,3	Tümör endometriuma sınırlı
Evre Ib	G 1,2,3	Myometrial invazyon yarıdan az
Evre Ic	G 1,2,3	Myometrial invazyon yarıdan fazla
Evre IIa	G 1,2,3	Endoservikal glandüler tutulum
Evre IIb	G 1,2,3	Servikal stromal invazyon
Evre IIIa	G 1,2,3	Tümör seroza ve/veya adnexlere yayılmış,ve/veya pozitif peritoneal sitoloji
Evre IIIb	G 1,2,3	Vajinal metastaz
Evre IIIc	G 1,2,3	Pelvik ve/veya paraaortik lenfatiklere metastaz
Evre IVa	G 1,2,3	Mesane ve/veya kolon mukozasına metastaz
Evre IVb	G 1,2,3	Abdominal ve/veya inguinal lenfatiklerde dahil olmak üzere uzak metastaz

Tablo 2.4. Endometrial karsinomda FIGO'un 'Grade' tanımlaması

G1	<%5	nonskuamöz veya nonmorular büyüme paterni
G2	<%6-50	nonskuamöz veya nonmorular büyüme paterni
G3	>%50	nonskuamöz veya nonmorular büyüme paterni

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1.Hastalar

Çalışmaya Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum polikliniğine başvuran ve Endometrium kanseri tanısı alan 17 kadın hasta dahil edildi. Çalışmamız için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 15.09.2005 tarih ve karar no:20 ile yapılabilir onayı alınmıştır.

Tablo 3.1.Çalışmaya katılan hastalar ve yaşları

	HASTA	YAŞ
1	N.K	71
2	S.Ö	62
3	M.T	54
4	H.A	56
5	F.K	75
6	N.Ç	67
7	H.B	48
8	D.Ö	59
9	K.K	53
10	H.E	59
11	E.A	59
12	G.Z	68
13	Ş.B	79
14	F.K	65
15	Ö.Ş	66
16	N.K	62
17	S.A	58

Tablo 3.2. Hastaların tümör tipleri,evre ve grade özellikleri

		Tümör tipi	Evre+grade
--	--	-------------------	-------------------

1	N.K	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 2
2	S.Ö	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 2
3	M.T	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 3
4	H.A	Endometrioid adenokarsinom	Evre IIIb grade 2
5	F.K	Endometrioid adenokarsinom	Evre IIb grade 2
6	N.Ç	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 2
7	H.B	Endometrioid adenokarsinom	Evre IIb grade 2
8	D.Ö	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 2
9	K.K	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 2
10	H.E	Endometrioid adenokarsinom	Evre IIIb grade 3
11	E.A	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 2
12	G.Z	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 3
13	Ş.B	Endometrioid adenokarsinom	Evre IIb grade 3
14	F.K	Endometrioid adenokarsinom	Evre IIa grade 2
15	Ö.Ş	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ib grade 3
16	N.K	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ic grade 2
17	S.A	Endometrioid adenokarsinom	Evre Ib grade 1

Bu çalışmaya endometrium kanserli toplam 17 hasta dahil edildi.10 tanesinden radyoterapi öncesinde alınan kanlar kontrol grubu olarak kabul edildi.9 hastaya sadece radyoterapi uygulanırken, 8 hastaya radyoterapiyle birlikte coenzyme Q10 verildi.

Çalışmadaki gruplar şunlardır:

- 1-Kontrol grubu (n=10) :Endometrium kanserli hastalar -radyoterapi almayan-
- 2-Radyasyon grubu (n=9):Sadece radyoterapi alan endometrium kanserli hastalar
- 3- Radyasyon+CoQ₁₀ (n=8): Radyoterapiyle birlikte coenzyme Q10 alan hastalar (radyoterapi ile birlikte 5 hafta boyunca günlük 400 mg dozda CoQ₁₀ aldılar)

Hastaların radyoterapiden hemen önce ve radyoterapi bitiminde kanları alındı. Kan örnekleri heparinli ve EDTA' lı tüplere konuldu.3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazmaları ayrılarak MDA (heparinli plazma) ve coenzymeQ10 (EDTA' lı plazma) çalışılmak üzere -70 °C'de saklandı. Eritrositler serum fizyolojik ile üç kez yıkanarak eritrosit paketi hazırlandı ve SOD, katalaz, GPx çalışılmak üzere -70 °C'de saklandı.

SOD, katalaz, GPx, MDA ölçümlerinde UV-1201 Shimadzu spektrofotometre (Shimadzu Corp.,Japan) kullanıldı.Coenzyme Q₁₀ Shimadzu HPLC cihazında ölçüldü.

3.1.1.Radyoterapi

Radyoterapi Co 60 telekobalt cihazı kullanılarak 45 Gy (1,8 Gy/gün) dozunda, her hafta 5 fraksiyon şeklinde, 5 hafta boyunca uygulandı.

3.1.2.İstatistik

Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Tüm değişkenler normal dağılıma uygunluk gösterdiği için üç grup arasında fark olup olmadığı Tek Yönlü Varyans Analizi ile test edildi. $p<0.05$ değerler anlamlı olarak kabul edildi.Verilerin grafiksel gösteriminde box-plot kullanıldı.

3.2.Yöntemler

3.2.1.Eritrosit Glutatyon Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentine'nin tanımladığı yöntemle göre belirlendi (86). Eritrosit süspansiyonunun 0.1 ml'si 2.58 ml 0.005 M EDTA içeren, pH'sı 7.0 olan 0.05 M fosfat tamponuna eklendi. Daha sonra 0.1 ml 0.0084 M NADPH, 0.01 ml GSSGR, 0.01 ml 1.125 M NaN_3 ve 0.1 ml 0.15 M GSH eklendi. Enzimatik reaksiyon 0.1 ml 0.0022 M H_2O_2 ekleyerek başlatıldı. NADPH'nın NADP'ye çevrimi 340 nm'de 4 dakika boyunca absorbans değişimi olarak izlendi. Bir dakikada oluşan absorbans değişimi bulundu.Absorbans değişimi NADP'ya ait ekstinksiyon katsayısına bölünerek enzim ünitesi hesaplandı. Enzim aktivitesi eritrositlerde Ü/g Hb. olarak verildi.

3.2.2. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

SOD aktivitesi fotoredükte riboflavin ve oksijenin reaksiyonu ile oluşan süperoksitin, nitrobluetetrazolium'u redükte etmesinin SOD tarafından inhibe edilmesi temeline dayanan, Fridovich ve Beuchamp'ın yönteminin Winterbourn ve arkadaşları tarafından modifiye edilen şekliyle ölçüldü (87).

Eritrosit suspansiyonunun 0.5 ml'si üzerine 3.5 ml distile su, 1 ml etanol ve 0.6 ml kloroform eklenerek kloroform-etanol ekstraksiyonu yapıldı. Vortexle karıştırılan tüpler 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Üstte kalan berrak kısım enzim ölçümü için kullanıldı. 0.05 ml hemolizat üzerine 100 ml'sinde 1.5 mg NaCN içeren 0.1 M EDTA'dan 0.2 ml., 1.5 mM NBT'den 0.1 ml eklendi ve 60x15x20 cm boyutlarında ve 15W bir floresanla üniform aydınlatılan lüminasyon kutusuna konuldu. 15 dakika bekletildikten sonra hemolizat konmayan tüp kör olarak kullanılarak, 560 nm'de absorbansları ölçüldü. SOD standartının verdiği inhibisyon grafiğine işlenerek örneklerin SOD aktivitesi bulundu.

1 SOD ünitesi NBT redüksiyonunun maksimum inhibisyonunun yarısını sağlayan enzim miktarı olarak tanımlandı. Enzim aktivitesi eritrositlerde Ü/g Hb olarak verildi.

3.2.3. Eritrosit Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz aktivitesi substratı olan hidrojen peroksidin uygun ısı ve ortamda 230 nm'de optik dansitesindeki düşüşün zamanla uygun olarak izlenmesi prensibine dayanan Beutler'in metodu uygulanarak tayin edildi (88).

Eritrosit hemolizati dilüsyonu 1/1000'e tamamlandı. Bu hemolizattan 0.04 ml alınarak inkübasyon sonrası tüplere konuldu. Tüplere önce pH'ı 8.0 olan 1M TrisHCl ve 5 mM EDTA içeren solüsyondan 0.1 ml. ve 10 mM hidrojen peroksitten 1.8 ml eklendi ve 37 °C'de 10 dk inkübasyon sonrasında üzerine 0.04 ml numune konularak 230 nm'de dakikadaki optik dansite düşüşü, hidrojen peroksit yerine distile su içeren köre karşı 5 dk. süreyle izlendi. Dakikadaki optik dansite düşüşü bulunarak enzim aktivitesi eritrositte Ü/g Hb olarak ifade edildi.

3.2.4. Plazma Malondialdehit Düzeylerinin Ölçümü

MDA ölçümü, Ohkawa ve arkadaşlarının MDA'nın asidik ortamda thiobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de absorbansının ölçülmesi prensibine dayanan yöntemi

uygulanarak yapıldı (89). Plazma numunesinden 0.5'er ml alınarak her birinin üzerine %8.1 sodyum dodesil sülfattan 0.2 ml, pH'ı 3.5 olan %20'lik asetik asitten 1.5 ml ve %0.8 thiobarbitürik asit solüsyonundan 1.5 ml eklenerek karıştırıldı ve 95 °C'de 60 dakika ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 5 ml n-Butanol/Piridin (15/1;v/v) eklendi.4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üst tabakanın absorbansı 532 nm'de ölçüldü.

Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanılarak hesaplanan MDA düzeyleri nmol/ml olarak ifade edildi.

3.2.5. Plazma Koenzim Q₁₀ Düzeylerinin Ölçümü

Plazma Ubikinon ölçümü Edlund'un tanımladığı yonteme göre (90) modifiye edilmiş immun diagnostik HPLC kit'i ile belirlendi.

200 µl numune üzerine 800 µl dilüsyon solüsyonu eklendi ve 10 saniye vortekslendi. Üzerine 1 ml internal standart ilave edilerek 10 saniye vortekslendi. Daha sonra 2ml ekstraksiyon solüsyonu eklenerek 2 dakika vortekslendi ve 10 dakika 3000 g'de santrifüj edildi. Üstteki tabaka bir başka tüpe alındı ve nitrojen akımı ile uzaklaştırıldı.Kalan kısım 150 µl ethanolde çözülerek kolona enjekte edildi.

Hesaplama :

$$\text{Numunenin konsantrasyonu} = \frac{\text{Numunenin pik yüksekliđi} \cdot \text{kalibratörün konsantrasyonu}}{\text{Numunenin internal standart pik yüksekliđi}} \cdot F$$

$$F = \frac{\text{Kalibratörün internal standart pik yüksekliđi}}{\text{Kalibratörün koenzim Q10 pik yüksekliđi}}$$

Cihaz : Shimadzu HPLC

Dedektör :Shimadzu SPD-6A, 275 nm

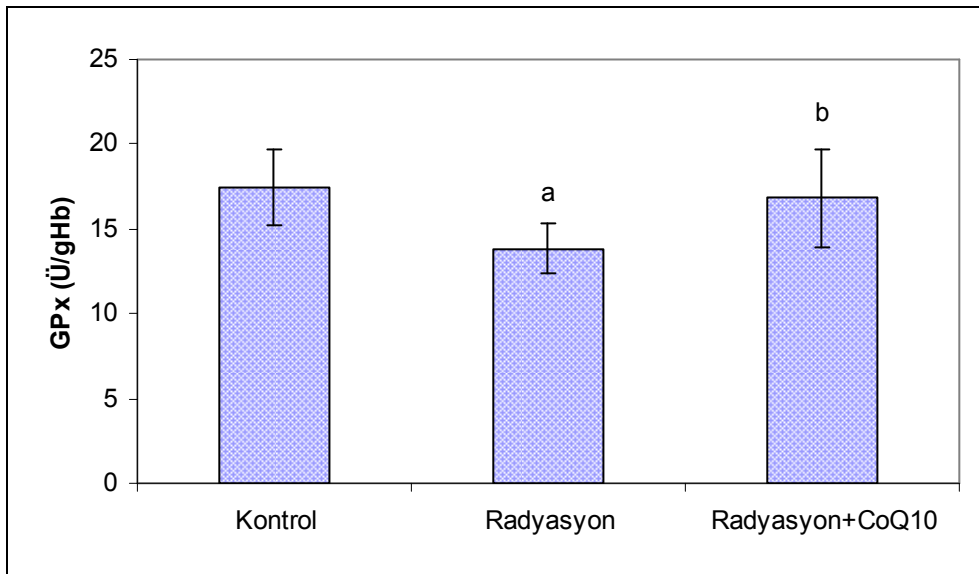
Akım hızı : 0.8-1.2 ml/dk

Kolon : C₁₈ reverse faz .125 mm x 4 mm.

4. BULGULAR

4.1. Eritrosit Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri

Radyasyon grubunda ölçülen GPx aktivitesi (13.82 ± 1.44 Ü/gHb) kontrol grubundan (17.43 ± 2.19 Ü/gHb) anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.01$). [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun GPx aktivitesi (16.80 ± 2.85 Ü/gHb) radyasyon grubuna göre yüksek bulundu ($p < 0.05$). Kontrol grubu ile [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$).



Şekil 4.1.Eritrosit glutasyon peroksidaz aktiviteleri

Tablo 4.1. Eritrosit glutatyon peroksidaz aktiviteleri (ortalama \pm standart hata)

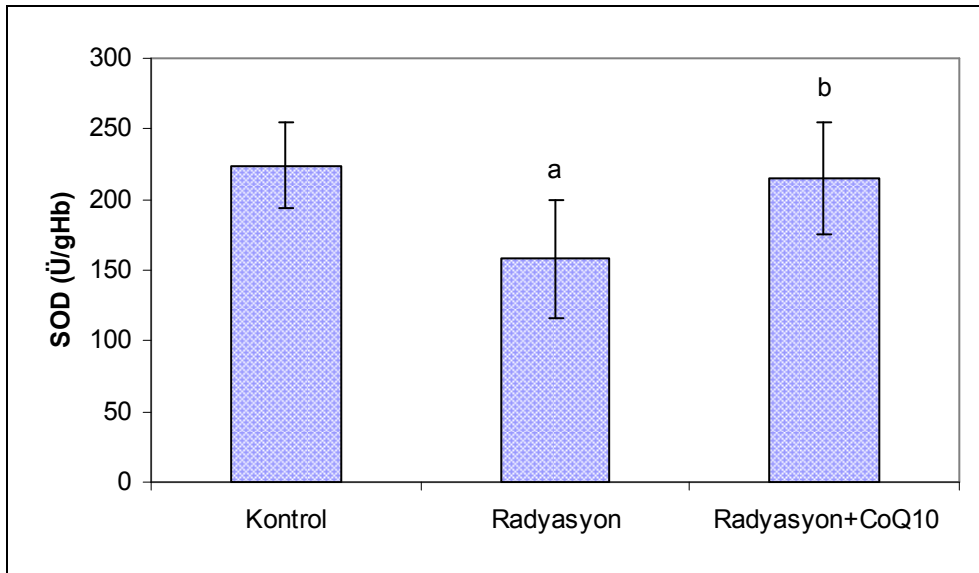
Gruplar	Kontrol (n=10)	Radyasyon (n=9)	Radyasyon+CoQ ₁₀ (n=8)
Ortalama \pm SH	17.43 \pm 2.19	13.82 \pm 1.44 ^a	16.80 \pm 2.85 ^b

a: p<0.01 kontrol grubuna karşı

b: p<0.05 radyasyon grubuna karşı

4.2. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktiviteleri

Radyasyon grubunda ölçülen SOD aktiviteleri (158.15 \pm 42.08 Ü/gHb) kontrol grubundan (224.25 \pm 30.88 Ü/gHb) anlamlı olarak düşük bulundu (p<0.01). [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun SOD aktivitesi (214.67 \pm 39.52 Ü/gHb) radyasyon grubuna göre yüksek bulundu (p<0.05). Kontrol grubu ile [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).



Şekil 4.2. Eritrosit süperoksit dismutaz aktiviteleri

Tablo 4.2. Eritrosit süperoksit dismutaz aktiviteleri (ortalama \pm standart hata)

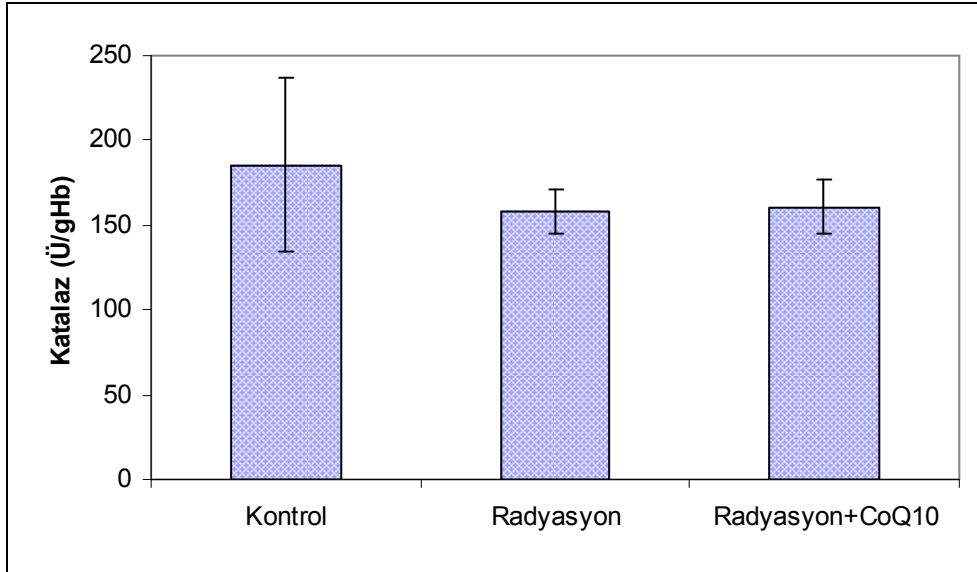
Gruplar	Kontrol (n=10)	Radyasyon (n=9)	Radyasyon+CoQ ₁₀ (n=8)
Ortalama \pm SH	224.25 \pm 30.88	158.15 \pm 42.08 ^a	214.67 \pm 39.52 ^b

a: p<0.01 kontrol grubuna karşı

b: p<0.05 radyasyon grubuna karşı

4.3. Eritrosit Katalaz Aktiviteleri

Kontrol grubu, radyasyon grubu ve [Radyasyon+CoQ₁₀] grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).



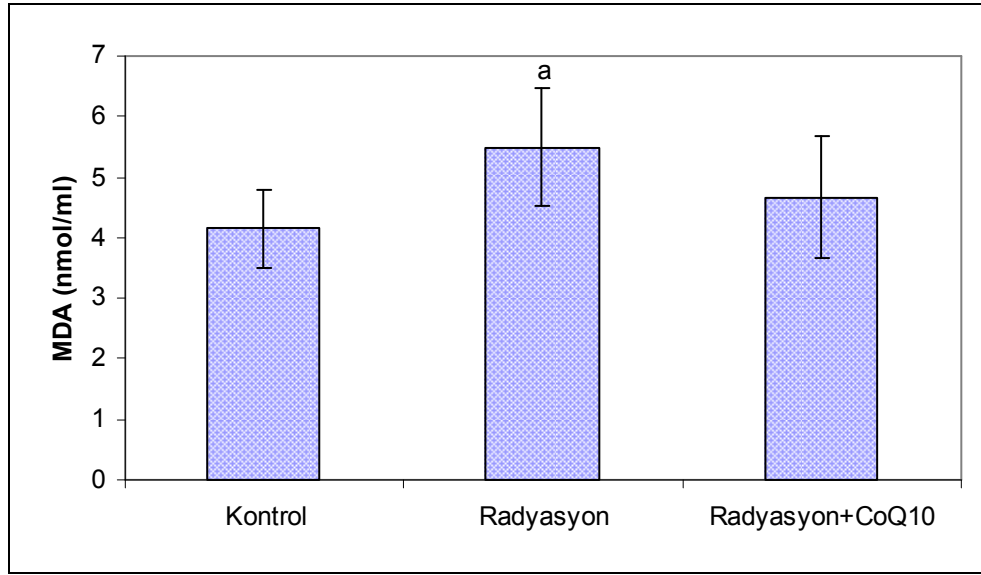
Şekil 4.3. Eritrosit katalaz aktiviteleri

Tablo 4.3. Eritrosit katalaz aktiviteleri (ortalama \pm standart hata)

Gruplar	Kontrol (n=10)	Radyasyon (n=9)	Radyasyon+CoQ ₁₀ (n=8)
Ortalama \pm SH	185.70 \pm 51.34	158.02 \pm 13.50	160.61 \pm 15.69

4.4. Plazma Malondialdehit Düzeyleri

Radyasyon grubunda ölçülen MDA düzeyleri (5.48 \pm 0.97 nmol/ml) kontrol grubundan (4.15 \pm 0.65 nmol/ml) anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0.01). [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu ile radyasyon grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).



Şekil 4.4. Plazma MDA düzeyleri

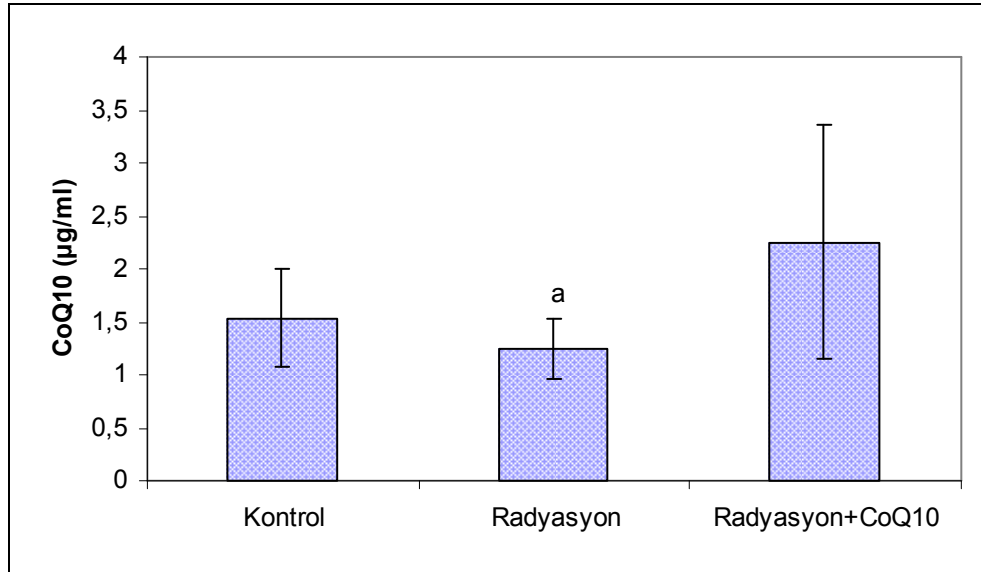
Tablo 4.4. Plazma MDA düzeyleri (ortalama \pm standart hata)

Gruplar	Kontrol (n=10)	Radyasyon (n=9)	Radyasyon+CoQ ₁₀ (n=8)
Ortalama \pm SH	4.15 \pm 0.65	5.48 \pm 0.97 ^a	4.66 \pm 1.00

a: $p < 0.01$ kontrol grubuna karşı

4.5. Plazma Koenzim Q₁₀ Düzeyleri

Radyasyon grubunun plazma CoQ₁₀ düzeyleri (1.24 ± 0.29 $\mu\text{g/ml}$) [Radyasyon+CoQ₁₀] grubundan (2.25 ± 1.10 $\mu\text{g/ml}$) anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.05$). Kontrol grubu ile radyasyon grubu ve [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$).



Şekil 4.5. Plazma koenzim Q₁₀ düzeyleri

Tablo 4.5. Plazma koenzim Q₁₀ düzeyleri (ortalama \pm standart hata)

Gruplar	Kontrol (n=10)	Radyasyon (n=9)	Radyasyon+CoQ ₁₀ (n=8)
Ortalama \pm SH	1.53 \pm 0.46	1.24 \pm 0.29 ^a	2.25 \pm 1.10

a: $p < 0.05$ Radyasyon +CoQ₁₀ grubuna karşı

5.TARTIŞMA

Kanser başlama, ilerleme ve malign dönüşüm basamaklarından oluşan uzun bir süreçtir. Serbest radikallerin bu süreçte yer aldığı ve tüm basamakları etkilediği bildirilmiştir (58). Radyasyon uygulaması kanser tedavisindeki başlıca yöntemlerden biridir (21) ve radyoterapi Endometrium kanserli hastaların tedavisinde cerrahi tedavinin yanında uygulanan bir yöntemdir (85). Radyoterapinin malign hücre ve dokuları elimine etmede büyük yarar sağladığı kanıtlanmıştır, bunun yanı sıra normal hücre ve dokuların fonksiyonlarını da değiştirmektedir. Radyoterapiye bağlı pek çok biyokimyasal komplikasyonlar gelişmekte; normal hücre DNA'sında serbest radikallere bağlı hasar, hücre membranı yapısında ve immün sistemde değişiklikler bu komplikasyonlar arasında yer almaktadır. Kanserli hastalarda radyoterapi sırasında indüklenen serbest radikallere bağlı hasar artmaktadır (22).

Su, bütün biyolojik sistemlerde en fazla bulunan moleküldür. Radyasyon, biyolojik etkilerini, hücredeki su moleküllerinin iyonizasyonu aracılığıyla oluşan $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, singlet oksijen ve H_2O_2 gibi aktif oksijen türleri ile gerçekleştirir (4, 59,60). Oluşan serbest radikaller nükleik asitler, proteinler ve membran lipidleriyle reaksiyona girerek hücresel makromoleküllerde hasar oluşturur (61,62). El Habit ve ark.(63) yaptıkları bir çalışmada tek doz 7 Gy gama radyasyon uygulanmış sıçanlarda radyasyon verilmesi süresince hücre içinde hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin oluştuğu ve bu radikallerin de kemik iliği hücrelerine toksik etki gösterdiği bulunmuştur. Taze insan lenfositleri, düşük dozdaki iyonize radyasyona maruz kaldığı zaman (<0.002 Gy) hücre membran yüzeyinde değişikliklerin meydana geldiği, yüzey antijenlerinde baskılanmanın olduğu gösterilmiştir (16).

Memeli hücreleri hücresel hasarı minimize edebilmek için, hem enzimatik hem non-enzimatik antioksidan mekanizmalar tarafından dengelenirler (63,64). Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık antioksidan savunma azalır veya zararlı bileşiklerin oluşum

hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (1).

Süperoksid dismutaz (SOD), oksijeni metabolize eden hücreleri $O_2^{\bullet -}$ radikalinin zararlı etkilerine karşı koruyan ve yaşam için gerekli olan bir enzimdir (2). Süperoksid dismutaz, süperoksit radikalini hasarlayan ilk savunma mekanizmasında rol oynar, süperoksidi H_2O_2 'e çevirir. H_2O_2 'de katalaz ve GPx tarafından metabolize edilir (22). Akıta ve ark. (65), gama radyasyon verilen ratlarda tükrük bezlerinde SOD aktivitesinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yine ratlarda yapılan diğer bir çalışma da radyasyonun eritrositlerde SOD aktivitesini azalttığını bulmuşlar.(66). Bir çalışmada fraksiyone dozlarda γ -ışınlaması yapılan ratlarda ışınlama sonrası, SOD aktivitelerinde önemli bir azalma görüldüğü bildirilmiştir (67). Kojima ve ark. (15) ise, farelerde düşük doz radyasyon uygulamasının SOD ve diğer endojen antioksidan aktiviteyi arttırdığını tespit etmişlerdir. Düşük dozda radyasyonun SOD gibi antioksidan enzimleri indüklediği görülürken (15), oksidatif stres antioksidan kapasiteyi çok fazla aştığında aktivitede düşme olduğunu rapor etmişlerdir (59,75). Yapılan bir çalışmada, radyoterapiyle tedavi edilen ağız kanserli hastalarda eritrosit SOD aktivitesinin azaldığı bulunmuştur (64). Yine bir başka çalışmada radyoterapi verilen oral squamöz hücreli kanserde eritrosit SOD aktivitesinin azaldığı ve bu azalmanın yoğun süperoksit üretimine (radyasyonda olduğu gibi) karşı SOD'un tüketimi arasındaki dengeye bağlı olabileceğini ileri sürülmüştür (22).

Çalışmamızda radyasyon grubunda kontrol grubuna göre eritrosit SOD aktivitesinde anlamlı azalma saptanmıştır ($p < 0.01$).

Yüksek doz radyasyon uygulamasında, SOD aktivitesindeki düşüşün, enzimin sentezindeki azalmanın, enzim yapısında meydana gelen yapısal değişikliklerin ya da Cu^{+2} nin Cu^{+1} e redüksiyonunun bir sonucu olabileceği ileri sürülmüştür (65). Ayrıca SOD enziminin katalitik bölgesinde histidin amino asidi içermesi ve histidinin radyosensitif bir amino asit olması (66) ve iyonize radyasyon etkisiyle oluşan artmış H_2O_2 'nin enzim üzerindeki inhibitör etkisi (69,70) SOD aktivitesindeki azalmayı açıklayabilir.

Çalışmamızda [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun eritrosit SOD aktivitesi radyasyon grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.05$). Kontrol grubu ile [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$).

Ubikinolün bir serbest radikal yakalayıcısı olarak $O_2^{\bullet -}$ radikalleri ile direkt olarak reaksiyona girebileceği gösterilmiştir (50). Koenzim Q10 verilmesi, radyasyon etkisiyle oluşan süperoksit anyon radikalinin yüksek miktarda H_2O_2 'i ortaya çıkartmasını engellemiştir. Hücrede oluşan yüksek miktarda H_2O_2 'in SOD enzimini inaktive ettiği gösterilmiştir (69,70).

Bu nedenle radyasyon öncesinde koenzim Q10 verilmesinin H₂O₂ düzeylerinin yükselmesini engelleyerek SOD enzimin aktivitesini arttırdığı düşünülebilir.

Glutasyon peroksidaz (GPx), hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar(2). Sabitha ve ark.(64) yapmış oldukları bir çalışmada radyoterapi alan ve almayan ağız kanserli hastalarda oksidan ve antioksidan aktivitedeki değişiklikleri incelemişler ve radyasyon uygulanan hasta grubundaki GPx aktivitesinin, uygulanmamış gruba göre oldukça düşük olduğunu bulmuşlardır. Glutasyonla ilişkili enzim aktivitesinin, sistemdeki selenyum konsantrasyonuna bağlı olduğuna ve serumda Se düzeyinin azalmasının, GPx'in azalmış aktivitesi için bir neden olabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada fare derisine fraksiyone dozda gama radyasyonun verilmesiyle, ışınlanmış olan gruplarda derinin GPx aktivitelerinde bir azalma olduğu bildirilmektedir (67).Yine bir çalışmada radyoterapi gören ağız kanserli hastalarda GPx'in azalmış aktivitesi tespit edilmiştir (22).

Yapmış olduğumuz çalışmada radyasyon uygulanmış olan grupta GPx aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığını gördük (p<0.01).

Radyasyon etkisiyle oluşan yüksek miktardaki H₂O₂ , GPx ve katalaz aktivitelerinde azalmaya neden olur (64). Yüksek miktarda oluşan lipid hidroperoksitlerin üretimine bağlı olarak da GPx aktivitesi azalmaktadır (22). GPx enzimi, inorganik (hidrojen peroksit) ve organik hidroperoksitleri (oksijen radikallerinin fosfolipid membranla reaksiyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitleride buna dahil) indirgeyen bir enzimdir (79). GPx enzimi, peroksitlerin detoksifikasyonu sırasında enzimin inaktif formu olan selenik asit ve selonosülfid formuna dönüşür (2,78).

Çalışmamızda, [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun eritrosit GPx aktivitesi radyasyon grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0.05). Kontrol grubu ile [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0.05).

Koenzim Q, iyonize radyasyon etkisiyle oluşumu artan O[•]₂ radikalini direkt olarak yakalayarak ortadan kaldıran bir antioksidandır (50,68) . Aynı zamanda doğrudan lipid peroksitleri temizleme özelliği vardır (48). [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunda bulduğumuz yüksek GPx aktivitesi, CoQ₁₀ 'un peroksitlerin GPx enzimini inaktif formu olan selenik asit ve selonosülfid formuna dönüşürmesini engellemesine bağlı olabilir.

Katalaz, yapısında 4 tane 'hem' grubu bulunan hemoprotein yapısında bir enzimdir. Görevi, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalamaktır (2). Düşük doz radyasyonun endojen antioksidan potansiyeli indüklediği ve radyasyona adaptif cevap olarak antioksidan kapasitenin arttığı gözlenirken, antioksidan kapasite aşıldığında ise aktivitede düşme

gözenmiştir (15,75). Yapılan çalışmalarda radyasyon sonrası katalaz aktivitelerinin azaldığı bulunmuş, H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ gibi serbest radikallerin radyasyon sonrası üretimindeki artışa bağlı olarak katalaz aktivitesinin azalabileceği öne sürülmüştür (22,64).

Çalışmamızda eritrosit CAT aktivitesi radyasyon grubunda kontrol grubuna göre düşük bulundu fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Hem proteinleri $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 gibi serbest radikallerden önemli ölçüde zarar görürler (2). Yapılan bir çalışmada radyasyonun oksijen bağımlı bir ayrıştırma ile 4 hem grubundan birisini parçaladığı ve katalaz aktivitesindeki azalmanın da bu hasara bağlı olabileceği düşünülmüştür (78).

Çalışmamızda [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun eritrosit katalaz aktivitesi radyasyon grubuna göre yüksek bulundu fakat bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$).

CoQ₁₀'nun $O_2^{\cdot-}$ radikalinin direkt yakalayıcısı olması nedeniyle CoQ₁₀ verilen grupta katalaz aktivitesinin radyasyon grubuna göre ılımlı bir şekilde arttığı görülmektedir. Bu nedenle radyasyon öncesi antioksidan olarak CoQ₁₀ verilmesi, H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ gibi serbest radikalleri tarafından katalaz enziminin inaktivasyonunu engellediği söylenebilir. GPx hem inorganik(H_2O_2) hem de organik hidroperoksitleri indirgerken katalaz ise sadece H_2O_2 'i indirger. Bu yüzden CoQ₁₀ süperoksit ve lipid peroksil radikallerini direkt olarak ortadan kaldırarak GPx aktivitesini katalaza göre daha fazla yükseltmiş olabilir.

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin etkisi sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali, membrandaki diğer doymamış yağ asitlerinden yeni lipid radikalleri oluşturarak reaksiyonun ilerlemesinde rol alır ve kendisi de lipid hidroperoksitlerine dönüşür. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehittir (2,25).

Radyasyonun $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, singlet oksijen ve H_2O_2 gibi aktif oksijen türlerini ürettiği bilinmektedir. Bu radikaller kolesterol esterlerine, membran fosfolipidlerine saldırırlar ve lipid peroksidasyona neden olurlar (4). Jagetica ve ark.(67), fare derisine fraksiyone dozlarda gama radyasyon verilmesiyle ciltte lipid peroksidasyonunun arttığını bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada, boyun bölgesine gama radyasyon uygulanan ratlarda lipid peroksidasyonunun arttığı bulunmuştur (65). Yine bir çalışmada tam vücut gama radyasyonuna maruz bırakılan ratlarda plazmada MDA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (66).

Radyoterapi ile tedavi edilen ağız kanseri hastalarında radyoterapi sonrası MDA düzeylerinin arttığı bulunmuştur (64).

Çalışmamızda plazma MDA düzeyleri radyasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$).

Maulik ve ark.(44) ekzojen olarak verilen CoQ₁₀ 'un iskemi ve reperfüzyon hasarına uğratılan domuz kalbinde MDA düzeylerini anlamlı olarak azalttığını bulmuşlardır. CCl₄ ve etanole maruz bırakılan farelerde CoQ₁₀ verilmesiyle karaciğer dokusunun MDA düzeylerinde azalma olduğu gösterilmiştir (68).

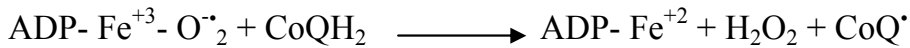
Çalışmamızda [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun plazma MDA düzeyleri radyasyon grubuna göre düşük bulundu fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Kontrol grubu ile [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0.05$).

Ubikinonun redükte formu olan ubikinolün (QH₂) lipid peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (44,48,51). ADP-perferil iyonları, süperoksid radikalleri, redükte CoQ₁₀ ile reaksiyona girerler ve böylece lipid peroksidasyonun başlangıç basamağını engellemiş olurlar. QH₂, peroksil ve lipid radikallerini yakalayıp lipid peroksidasyonunun ilerleme safhasını durdurabilirler (50). α - tokoferoksil radikalinden E vitamininin rejenerasyonunu sağlayarak indirekt olarak da lipid peroksidasyonunu inhibe edebilir (45,47,55).

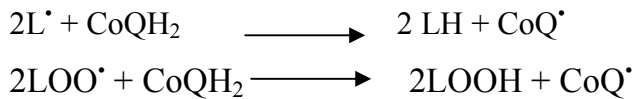
Koenzim Q mitokondrial solunum zincirinde, NADH, süksinat dehidrogenaz ve sitokrom sistemi arasında elektron transportuna aracılık eden oksidatif fosforilasyonun önemli bir komponentidir (48,50).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda CoQ nun yalnızca solunum zincirinin esansiyel bir üyesi olmadığı aynı zamanda güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu da gösterilmiştir (45,47).

Redükte Koenzim Q, ADP-perferil radikalleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonun başlangıç safhasını inhibe edebilir.



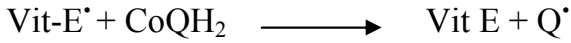
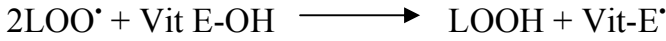
Redükte CoQ aynı zamanda lipid ve peroksil radikalleriyle reaksiyona girerek ilerleme safhasını önleyebilir (50).



CoQH₂ aynı zamanda süperoksitle direkt olarak reaksiyona girebilir.



Ayrıca ubikinol, LOO[•]'yu direkt olarak yada α-tokoperoksil radikalinden vit E'yi rejenere ederek indirekt yolla lipid peroksidasyonu elimine edebilir (48,53).



ve böylece lipid peroksidasyonun çoğalmasını engeller (48).

CoQ, membranda doymamış lipid zincirinin çok yakınına yerleşmiş olup serbest radikallerin primer temizleyicisi olarak görev yapar. CoQ'nun hücre membranındaki büyük kısmı kinol formunda olduğundan çok etkili bir antioksidandır. Biyosentezin azalması, yıkımın artması, membran lipidlerinde kinon hareketini engelleyen değişiklikler koenzim Q miktarında azalmaya neden olabilir (47). Genetik mutasyonlar, yaşlanma, kanser serum ve dokulardaki koenzim Q miktarında azalmaya sebep olabilirler. Hodges ve ark.(76)'nın belirttiğine göre Folkers ve arkadaşları kanser hastalarında yaptıkları çalışmalarda, meme akciğer ve pankreas kanseri olan hastalarda CoQ₁₀ seviyesinin normalden düşük olduğunu buldular. Bir çalışmada CoQ sentezinde yetmezlik olan mutant bir maya, normal mayalara göre daha fazla lipid peroksit oluşumu göstermiştir (47). Beyindeki dejeneratif hastalıklarda ise ubikinon konsantrasyonunun arttığı bulunmuştur (48).

Novoselova ve ark. (77), 8 Gy dozunda radyasyona maruz bırakılan sıçanlarda ubikinon-8'in koruyucu ve tedavi edici etkilerini incelemişlerdir. Kontrollerle kıyaslandığında ubikinon verilen sıçanlarda sağ kalma oranının %16-20 arttığı bulunmuştur. Yılmaz T. (43)'nin belirttiğine göre Bergemann ve arkadaşları, yaşlanma ve photoaging'in sellüler oksidasyonun artışı ile ilişkili olduğunu bunun da endojen sellüler antioksidan bir koenzim olan CoQ₁₀'un azalmış seviyesine bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir. Aynı araştırmacılar CoQ₁₀ topikal uygulamasında epidermise CoQ₁₀'un penetre olabildiğini ve kırışıklıklarda azalmaya neden olduğunu, CoQ₁₀'un kerotositlerde UVA ile oluşturulan oksidatif strese karşı etkili olduğu ve oksidatif DNA hasarını da önleyebildiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda radyasyon grubunun plazma CoQ10 düzeyleri kontrol grubundan düşük bulundu fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Ramadan ve ark.(72) yapmış olduğu bir çalışmada magnetik alana maruz bırakılan farelerde testicular toksisitenin etkilerini incelemişler ve profilaktik olarak verilen CoQ₁₀'un farelerde sperm sayısını anlamlı derecede koruduğunu bulmuşlardır. Parkinson'lu hastalarda yapılan bir çalışmada hastalığın tedavisinde terapötik ilaç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (73). Koenzim Q₁₀ alımının koroner kalp hastalıklarında yararlı olabileceği öne sürülmüştür (74). Yılmaz T. (43)'nin belirttiğine göre Quiles ve arkadaşları CoQ uyguladıkları farelerin karaciğer mitokondrial membranlarında ; CoQ ve alfatokoferol düzeyinde artış ile antioksidan kapasitesinde artış ve oksidasyona karşı koruma geliştiğini bildirmişlerdir .

Eksojen olarak alınan koenzim Q, kan ve dokularda koenzim Q konsantrasyonu arttırmaktadır (48).

Çalışmamızda [Radyasyon+CoQ₁₀] grubunun plazma CoQ10 düzeyleri radyasyon grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu ile [Radyasyon+CoQ₁₀] grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$).

Çalışmamızda ekzojen verdiğimiz koenzim Q₁₀ ,[Radyasyon+CoQ₁₀] grubunda plazma koenzimQ₁₀ düzeyini yükseltmiştir.

Dietle koenzim Q eksikliğini kapatılması zordur, çünkü koenzim Q içeren besinlerin oldukça yüksek miktarda alınmasını gerektirir (48). Koenzim Q₁₀'un kanser hastalarında faydalı olduğunu öne süren anekdotal deliller oldukça fazladır. Fakat bu konuda yapılmış çalışmaların hiçbirinde kontrol grubu ve randomizasyon yoktur (71,76). KoenzimQ₁₀'un toksisitesi oldukça düşüktür ve 500 mg/gün doza kadar anlamlı bir yan etkisi olmadan uluslararası bir besin katkısı olarak satılmaktadır (76).

6.SONUÇ

Endometrium kanseri kadın genital yollarının en sık rastlanan kötü huylu tümörüdür ve gelişmiş ülkelerde tüm jinekolojik kanserlerin yarısına yakınına oluşturmaktadır.

Radyoterapi Endometrium kanserli hastaların tedavisinde cerrahi tedavinin yanında uygulanan bir yöntemdir. Radyoterapinin malign hücre ve dokuları elimine etmede büyük yarar sağladığı kanıtlanmıştır, bunun yanı sıra normal hücre ve dokuların fonksiyonlarını da değiştirmektedir. Radyoterapiye bağlı pek çok biyokimyasal komplikasyonlar gelişmekte ve kanserli hastalarda radyoterapi sırasında indüklenen serbest radikallere bağlı hasar artmaktadır.

Bu çalışma radyoterapi alan endometrium kanserli 17 hasta üzerinde yapıldı. Bir antioksidan olan koenzim Q₁₀'nun koruyucu etkisi incelendi. Bu amaçla eritrosit glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktiviteleri, plazma malondialdehit (MDA), koenzim Q₁₀ seviyeleri ölçüldü. Radyasyon grubunda GPx, SOD ve CAT aktiviteleri ve plazma CoQ₁₀ düzeyleri radyasyonla azalırken plazma MDA düzeylerinin arttığı görüldü. [Rad+CoQ₁₀] grubuna antioksidan olarak verdiğimiz CoQ₁₀; kan GPx, SOD ve CAT aktivitelerini ve plazma CoQ₁₀ düzeyleri arttırdığını plazma MDA düzeylerini ise azalttığını tespit ettik.

Sonuç olarak çalışma bulgularımız, radyoterapi uygulanan endometrium kanseri hastalarında oksidan stresin arttığını göstermiştir. Koenzim Q₁₀, radyoterapi ile artan oksidan stresi azaltmaktadır. Bu nedenle, radyasyon tedavisi gören kanserli hastalara koenzim Q₁₀ verilmesinin, radyoterapiye bağlı komplikasyonların önlenmesi açısından klinik yararının olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Uysal M.Serbest radikaller, lipit peroksitleri ve organizmada prooksidan- antioksidan dengeyi etkileyen koşullar.Klinik Gelişim.1998;11:336-341.
2. Akkuş İ.Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri.Konya: Mimoza Yayınları, Kuzucular Ofset;1995.
3. Cheeseman KH, Slater TF.An İntroduction to free radical biochemistry.Br Med Bull.1993;49:481-493.
4. Ueda T, Toyoshima Y, Moritani T, Ri K, Otsuki N, Kushihashi T, Yasuhara H,Hishida T.Protective effect of dipyridamole against lethality and lipid peroxidation in liver and spleen of the ddY mouse after whole-body irradiation. Int J Radiat Biol.1996;69(2):199-204.
5. Halliwell B.Gutterage J.M.C.Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. Methods Enzymol.1990;186:1-85.
6. Halliwell B.Reactive oxygen species in living systems:source, biochemistry, and role in human disease.Am J Med.1991;91(Supp3C):14-21.
7. Kılınç K, Kılınç A.Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri.Hacettepe Tıp Dergisi.2002;33(2):110-118.
8. Arıtış Y, Bedirli A.Nitrik oksitin gastrointestinal sistemdeki rolü.T.Klin J Med Sci.1998;18:145-149.
9. Guittet O, Roy B, Lepoivre M.Nitric oxide: a radical molecule in quest of free radicals in proteins.Cell Mol Life Sci.1999;55:1054-1067.
10. Halliwell B. Free radicals, antioksitants, and human disease: curiosity, cause, or concequence? Lancet. 1994;344:721-724.

11. Ünal G, Ecevit S, Koçak Ü.İyonizan radyasyon ve tanısal radyolojide radyoproteksiyon.Sendrom.1995;Eylül:73-77.
12. Yaren H, Karayılanoğlu T.Radyasyon ve insan sağlığı üzerine etkileri.TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni.2005;4(4):199-208.
13. Edward R, Powsner MD.Basic principles of radioactivity and its measurement. Tietz Textbook of Clinical Chemistry.İn:Burtis A.C, Ashwood RE, editörs. 2 nd.ed. Philadelphia:1999.p.256-268.
14. Hall E.J.The physics and chemistry of radiation absorbtion, radiobiology for radiologist.3 th ed. New York;1987.
15. Kojima S, Matsuki O, Kinoshita H, Gonzales VT, Shimura N, Kubodera A.Does small-dose γ -ray radiation induce endogenous antioxidant potential in vivo? Biol Pharm Bull.1997;20:601-604.
16. Greenstock CL.Radiation and aging: Free radical damage, biological response and possible antioxidant intervention.Med Hypotheses.1993;41:473-482.
17. Yülek GG.Radyasyon fiziği ve radyasyondan korunma.Sek Yayınları;1992.
18. Ames B, Shigenaga MK, Hagen TM.Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging.Proc Natl Acad Sci USA.1993;90:7915-7922.
19. Sun J, Chen T.Role of antioxidant enzymes on ionizing radiation resistance.Free Radic Biol Med.1998;24(4):586-93.
20. Kaya A.İyonize radyasyonun biyolojik etkileri.Dicle Tıp Dergisi.2002;29(3):65-75.
21. Prasad KN, Cole WC, Kumar B, Prasad Che K.Pros and cons antioxidant use during radiation therapy.Cancer Treat Rev.2002;28:79-91.
22. Elango N, Samuel S, Chinnakkannu P.Enzymatic and non-enzymatic antioxidant status in stage (III) human oral squamous cell carcinoma and treated with radical radio therapy: Influence of selenium supplementation.Clinica Chimica Acta. 2006;373:92-98.
23. Noaman E, Zahran AM, Kamal AM.Vitamin E and selenium administration as a modulator of antioxidant defans system: biochemical assesment and modificiation. Biol Trace Elem Res.2002;86(1):55-64.
24. Gutteridge JM.Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage.Clin Chem Dec.1995; 41(12 Pt 2):1819-28.

25. Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. Klinik Gelişim. 1995;8:3906-3911.
26. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri. 1989;9(1).
27. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, Mccord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. Ann Intern Med. 1987;107(4):526-45.
28. Holley AE, Cheeseman KH. Measuring free radical reactions in vivo. Br Med Bull. 1993;49(3):494-505.
29. Erenel G, Erbaş D, Arıcioglu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi Tıp Dergisi. 1992;3:243-250.
30. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 1997;3(4):92-95.
31. Pacifici RE, Davies KJA. Protein, lipid and repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. Gerontology. 1991;37:166-180.
32. Kolanjiapan K, Ramachandran CR, Manoharan S. Biochemical changes in tumor tissues of oral cancer patients. Clin Biochem. 2003;36:61-65.
33. Noguchi N, Watanabe A, Shi H. Diverse functions of antioxidants. Free Rad Res 2000;33:809-817.
34. Mates JM, Gomez CP, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 1999;32:595-603.
35. Chaudiere J, Ferrari I. Intracellular antioxidants : from chemical to biochemical mechanisms. Food Chem Toxicol. 1999;37:949-962.
36. Karabulut AB, Özerol E, Temel İ, Gözükara EM, Akyol Ö. Yaş ve sigara içiminin eritrosit katalaz aktivitesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2002;9:85-88.
37. Yalçın S. Antioksidanlar. Klinik Gelişim. 1998;11:342-346.
38. Öztürk M, Güzelhan Y, Sayar K, Tüzün Ü. Yaygın gelişimsel bozukluğu olan çocuklarda plazma malondialdehit ve glutatyon düzeylerinin araştırılması. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni. 2001;11:155-159.

39. Karataş F, Aşkın U, Halifeoğlu İ, Dönder E. Guatr'lı hastalarda antioksidan vitaminler(A,E ve C), Selenyum ve Glutatyon Peroksidaz(GSH-Px) düzeylerinin araştırılması.F Ü Sağ Bil Der.2006;20(4):277-280.
40. Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev.* 1997;55:44-49.
41. Hara M, Abe M, Suzuki T, Reither R. Tissue changes in glutathione metabolism and lipid peroxidation induced by swimming are partially prevented by melatonin. *Pharmacol Toxicol.* 1995;78:308-312.
42. Vijayalaxmi, Meltz ML, Reither RJ, Herman TS. Melatonin and protection from genetic damage in blood and bone marrow: whole-body irradiation studies in mice. *J Pineal Res.* 1999; 27: 221-225.
43. Yılmaz T. CoQ10 ve klinik uygulamaları. *Biyokimya Dergisi.* 1999;2(24):44-47.
44. Maulik N, Yoshida T, Engelman RM, Bagchi D, Otani H, Das DK. Dietary coenzyme Q₁₀ supplement renders swine hearts resistant to ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;278:1084-1090.
45. Frei B, Kim MC, Ames BN. Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc Natl Acad Sci.* 1990;87:4879-4883.
46. Kwong LK, Kamzalov S, Rebrin I, Bayne ACV, Jana CK, Morris P, Forster MJ, Sohal RS. Effects of coenzyme Q₁₀ administration on its tissue concentrations, mitochondrial oxidant generation, and oxidative stress in the rat. *Free Rad Biol Med.* 2002;33:627-638.
47. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q₁₀. *J Am Coll Nutr.* 2001;20:591-598.
48. Ernster L, Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta.* 1995;1271: 195-204.
49. Kaikkonen J, Nyssönen K, Porkkala –Sarataho E, Poulsen HE, Metsa-Ketala T, Hayn M, Salonen R, Salonen JT. Effect of oral coenzyme Q₁₀ supplementation on the oxidation resistance of human VLDL+LDL fraction: absorption and antioxidative properties of oil and granule-based preparations. *Free Radic Biol Med.* 1997;22:1195-1202.
50. Beyer RE. An Analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an antioxidant. *Biochem Cell Biol.* 1992;70:390-403.

51. Rauscher FM, Sanders RA, Watkins III JB. Effects of coenzyme Q10 treatment on antioxidant pathways in normal and streptozocin-induced diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2001;15(1):41-46.
52. Xia L, Björnstedt M, Nordman T, Eriksson LC, Olsson JM. Reduction of ubiquinone by lipoamide dehydrogenase. *Eur J Biochem.* 2001;268 (5):1486-1490.
53. Zhang Y, Trunen M, Appelkuist EL. Restricted uptake of dietary coenzyme Q is in contrast to the unrestricted uptake of α -tokopherol into rat organs and cells. *J Nutr.* 1996;126:2089-2097.
54. Cutler GR, Rodriguet H. Critical reviews of oxidative stress and aging, advances in basic science, diagnostics and intervention. Singapore:1,785, World Scientific; 2003.
55. Portakal O, Ozkaya O, Inal ME, Bozan B, Koşan M, Sayek I. Coenzyme Q₁₀ concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. *Clin Biochem.* 2000;33(4):279-284.
56. Simone JV. Oncology. In: Cecil Textbook Of Medicine. In: Benneth JC, Plum F, editörs. Philadelphia: Saunders Company; 1997. p.1005.
57. Lango DI. Neoplastik disorders. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. In: Fauci As, Braunwald E, editörs: McGraw Hill Companies; 1998. p.493-543.
58. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bull.* 1993;49:523-544.
59. Inal ME, Akgün A, Kahraman A. Radioprotective effects of exogenous glutathione against whole-body γ -Ray irradiation: age-and gender-related changes in malondialdehyde levels, superoxide dismutase and catalase activities in rat liver. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2002;24(4):209-212.
60. Navarro J, Obrador E, Pellicer JA, Asensi M, Vina J, Estrela JM. Blood glutathione as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans. *Free Radic Biol Med.* 1997;22:1203-1209.
61. Karabulut AB, Bayındır Y, Öztürk Ç, Bacıoğlu K, Sönmez E, Gözükara EM. Akut, kronik ve interferon alfa tedavisi alan hepatit B'li hastalarda eritrosit süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri. *Klinik Gelişim.* 2001;14:41-45.

62. Çakatay U, Telci A, Kayali R, Tekeli F, Akçay T, Sivas A. Relation of aging with oxidative protein damage parameters in the rat skeletal muscle. *Clin Biochem.* 2003;36:51-55.
63. El-Habit OHM, Saada HN, Azab Kh.Sh, Abdel-Rahman M, El-Malah DF. The modifying effect of β -carotene on gamma radiation-induced elevation of oxidative reactions and genotoxicity in male rats. *Mutat Res.* 2000;466: 179-186.
64. Sabitha KE, Shyamaladevi CS. Oxidant and antioxidant activity changes in patients with oral cancer treated with radiotherapy. *Oral Oncol.* 1999;35:273-277.
65. Akita S, Nagayama M, Kaneda T, Oka T, Ohishi N, Yagi K. Effects of γ -ray irradiation on superoxide dismutase activity and lipid peroxide level in mouse salivary glands. *J Appl Biochem.* 1984;6:64-69.
66. Kergonou JF, Thiriot C, Braquet M, Ducouso R, Rocquet G. Influence of whole-body γ -irradiation upon rat erythrocyte: lipid peroxidation and osmotic fragility. *Biochimie.* 1986;68:311-318.
67. Jagetia GC, Rajanikant GK, Rao SK, Baliga MS. Alteration in the glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation by ascorbic acid in the skin of mice exposed to fractioned γ -radiation. *Clin Chim Acta.* 2003;332:111-121.
68. Beyer RE. The participation of coenzyme Q in free radical production and antioxidation. *Free Radic Biol Med.* 1990;8:545-565.
69. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defence mechanisms in the aging brain. *Faseb J.* 1995;9:526-533.
70. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem.* 1992;38(1):66-70.
71. Folkers K, Brown R, Judy WV, Morita M. Survival of cancer patients on therapy with coenzyme Q10. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;192(1):241-245.
72. Ramadan LA, Abd-Allah ARA, Aly HAA, Saad-el-din AA. Testicular toxicity effects of magnetic field exposure and prophylactic role of coenzyme Q10 and L-carnitine in mice. *Pharmacol Res.* 2002;46(4): 363-370.

73. Müller T, Büttner T, Gholipour A, Kuhn W. Coenzyme Q10 supplementation provides mild symptomatic benefit in patients with parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2003;341: 201-204.
74. Hughes K, Lee BL, Feng X, Lee J, Ong CN. Coenzyme Q₁₀ and differences in coronary heart disease risk in Asian Indians and Chinese. *Free Radic Biol Med.* 2002;32(2):132-138.
75. Peltola V, Parvinen M, Huhtaniemi I, Kulmala J, Ahotupa M. Comparison of effects of 0.5 and 3.0 Gy X-irradiation on lipid peroxidation and antioxidant enzyme function in rat testis and liver. *J Androl.* 1993;14(4):267-274.
76. Hodges S, Hertz N, Lockwood K, Lister R. CoQ₁₀: could it have a role cancer management? *BioFactors.* 1999;9:365-370.
77. Novoselova EG, Kolomiitseva IK, Korsunskii OF, Obol'nikova EA, Samokhvalov GI, Kogan AM, Mozgovoï EG, Kuzin AM. Radioprotective properties of ubiquinones during acute and chronic irradiation of rats. *Radiobiologiya.* 1990;30(6):774-778.
78. Kahraman A, Inal ME. Protective effects of quercetin on ultraviolet a light- induced oxidative stress in the blood of rat. *J Appl Toxicol.* 2002;22:303-309.
79. Rodell TC. Glutathione peroxidase mimics, critical reviews of oxidative stress and aging. Singapore: Word Scientific; 2003.
80. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species, its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS* 1991;281(1,2):9-19.
81. Akman SA. Critical Reviews of oxidative stress and aging. In: Cutler RG, Rodriguez H, editörs. Overview of oxidative stress and cancer. North Carolina: World scientific publishing co. Ptc. Ltd; 2003. p.926-935.
82. O'brien PJ. Antioxidants and cancer. Molecular mechanism. In: Armstrong D, editör. In free radicals in diagnostic medicine. New York: Plenum Press; 1994. p.215- 239.
83. Lurain JR. Uterin cancer. 12th ed. Baltimore: In Novak's gynecology; 1996.
84. DiSaia PJ, Creasman WT. Adenocarcinoma of the uterus. 5th ed. St. Louis: In clinical gynecologic oncology; 1997.
85. Berek JS, Hacker NF. Pratik Jinekolojik Onkoloji. İç: Güner H, editör. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 1999.

86. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin. Med.* 1967;70:158-169.
87. Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med.* 1975;85:337-342.
88. Beutler E. Red cell metabolism a manual of biochemical methods. 3th ed. New York: Grune and Stratton; 1973. p. 70-74.
89. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95:351-358.
90. Edlund PO. Determination of coenzyme Q₁₀, alpha-tocopherol and cholesterol in biological samples by coupled-column liquid chromatography with coulometric and ultraviolet detection. *J Chromatogr.* 1988;425:87-97.