

Kolekteral kanserde oksidatif stres (Erken Sonuçlar)

Mesut TEZ¹, Erdal GÖÇMEN¹, Mahmut KOÇ¹, Hikmet AKGÜL²

¹Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. Cerrahi Kliniği

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, Cerrahi Onkoloji BD, ANKARA

ÖZET

Amaç: Oksidatif stres doku veya hücrede oluşan Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) nin konsantrasyonunun antioksidan kapasiteyi aşması olarak tanımlanır. Uzun süreli oksidatif stres kanser gelişiminde rol oynar. Bu çalışmada kolorektal kanser dokusunda oksidatif stresin düzeyi araştırılmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** 2000-2001 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Onkoloji Bilim dalında ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde ameliyat olan yaşları 35 ile 80 arası değişen 17 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Ameliyat sırasında, piyes çıkar çıkmaz tümör dokusundan ve sağlam cerrahi sınırdaki mukozadan yaklaşık 1 cm³ doku örneği alınarak Malondialdehid (MDA), Superoksitdismutaz (SOD), Katalaz(CAT), Glutatiyon peroksidaz (GPX) düzeyleri ölçüldü. **Bulgular:** Tümör ve normal dokulardaki serbest oksijen radikallerinin konsantrasyonu arasında anlamlı fark bulunamadı. **Sonuç:** Kolorektal kanserli hastalarda tümör dokusundaki oksidatif stres normal dokuya göre farklı değildir.

Anahtar Kelimeler: Kolo-rektal kanser, serbest oksijen radikalleri, oksidatif stres

Selçuk Tıp Derg 2005; 21:79-82

SUMMARY

Oxidative stress in colorectal cancer (early results)

Objective: Oxidative stress is defined as the event that the concentration of reactive oxygen species (ROS) formed in tissue or cells exceeding the antioxidant capacity. Long duration oxydative stress predisposes to cancer development. In this study, the role of oxydative stress in colorectal cancers was searched. **Material and Methods:** 17 patients with colorectal cancer operated in Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Surgical Oncology and Ankara Numune Training and Research Hospital between 2000-2001 were included in the study. During the operation, 1 cm³ of mucosa was harvested from the tumoral and neighbouring healthy tissue just following the extraction of specimen. Malondialdehyde (MDA), Superoxide dismutase(SOD), Catalase (CAT) and Glutathione peroxydase (GPX) levels were measured in these tissue samples. **Results:** Concentration of free oxygen radicals in tumoral and healthy normal tissues were found to be statistically non-different. **Conclusion:** Oxidative stress in tumoral tissue of colorectal cancers was not different from the normal tissue.

Key Words: Colo-rectal cancer, free oxygen radicals, oxidative stress.

Oksidatif stres doku veya hücrede oluşan Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)'nin konsantrasyonunun antioksidan kapasiteyi aşması olarak tanımlanır. Oksidatif stres geri dönüşümlü yada geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açar. Oksidatif stres akut ya da kronik olabilir. İskemi-reperfüzyonda, akut enflamasyonda ve hiperoksi'de kısa süreli bir oksidatif stres varken, kronik enflamasyonda uzun süreli bir oksidatif stres vardır¹⁻⁵. Bu uzun süreli oksidatif stres kanser gelişiminde rol oynar⁽⁶⁻¹¹⁾.

SOR bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu olan moleküllerdir. SOR bir zincirleme reaksiyonla non radikal molekülleri radikal moleküller haline çevirirler⁽³⁾. Oksidatif stres sonrası oluşan SOR DNA, lipid ve protein hasarına yolaçar. SOR ile okside

olan yağ asitleri lipid peroksi radikallerine ve lipid hidroperoksitlere dönüşürler. Lipid peroksi radikalleri ise malondialdehide dönüşür (MDA). Lipid radikalleri hücre membranını rahatlıkla geçerek hücredeki homeostazisi bozar. Lipid radikalleri DNA ile de reaksiyona girerek DNA-MDA ürünleri oluşturur. SOR endojen ya da eksojen oluşabilir. Endojen SOR normal hücre metabolizması ve oksidatif fosforilasyon sonrası oluşur. İlaçlar, hormonlar ve bazı kimyasallar eksojen SOR'ni oluştururlar⁽²⁾.

Antioksidan mekanizmalar, antioksidan enzimler, endojen non enzimatik antioksidanlar ve eksojen antioksidanlar olarak üç gruba ayrılırlar⁶.

Antioksidan enzimler: Superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX)

Haberleşme Adresi: Dr. Mesut TEZ

37.Sk. 19/6 Bahçelievler/ANKARA

e-posta: mtez@hacettepe.edu.tr

Geliş Tarihi : 01.06.2005

Yayına Kabul Tarihi : 07.09.2005

antioksidan enzimlerdir. SOD, superoksit anyonunun (O_2^-) hidrojen peroksit dönüşümünü katalize eder(12). Hidrojenperoksit (H_2O_2), CAT tarafından H_2O ve O_2 'e dönüştürülür. H_2O_2 , GPX ile de detoksifiye edilir. GPX bu işlemi yaparken redükte glutatyondan (GSH) elektron alır. Oksidatif stres yokluğunda bu enzimler çok düşük düzeydedir. Bu enzimlerdeki artma ve azalmalar denge durumunu değiştirerek oksidatif strese yol açar(6).

Endojen non enzimatik antioksidanlar: Ekstra ve intra sellüler SOR ilk basamakta önleyen antioksidanlardır. Bu grupta lipofilik (bilirubin), hidrofilik (GSH) ve protein (sistein üzerindeki sulfidril grupları) yapısında antioksidanlar vardır.

Ekzojen antioksidan moleküller: a-tokoferol, b-karoten ve askorbik asit bu grupta yer alır(3,6).

Tüm kanserlerin 1/3'ü kronik enflamasyonun meydana getirdiği kronik oksidatif stres nedeniyle oluşur.

Bu çalışmada kolorektal kanserli hastaların kanser dokularındaki oksidatif stresin düzeyinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu konuda yürütülmekte olan çalışmanın erken sonuçları sunulmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

2000-2001 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Onkoloji Bilim Dalında ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde ameliyat olan yaşları 35 ile 80 arası değişen 17 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların demografik özellikleri Tablo. 1 de özetlenmiştir.

Hiçbir hasta preoperatif kemoterapi almamıştır. Hastaların 10'u kadın (%59) 7'si erkektir (%41). Tümörlerden 4'ü sağ kolonda (%23,5), 5'i sol kolon ve sigmoid kolonda (%29,4), 8'i (%47)

Tablo 1. Hastaların klinik ve patolojik özellikleri (N=17)

| | |
|-----------------------|-----------|
| Yaş; ortanca(dağılım) | 60(35-80) |
| Cins(E/K) | 7/10 |
| Yerleşim | |
| Sağ kolon | 4 |
| Sol kolon | 5 |
| Rektum | 8 |
| Evre | |
| I | 0 |
| II | 4 |
| III | 11 |
| IV | 2 |
| Astler-Coller | |
| B1 | 2 |
| B2 | 2 |
| C1 | 4 |
| C2 | 7 |
| D | 2 |

rektumda idi.

Ameliyat sırasında, piyes çıkar çıkmaz tümör dokusundan ve sağlam cerrahi sınırdaki mukozadan yaklaşık 1cm^3 doku örneği alınarak biyokimyasal işlemler başlayana kadar -200C de saklandı. Dokular homojenize edildikten sonra çıkarılan eritrosit sedimentleri kendi haline çözünmeye bırakıldı.

Malondialdehid (MDA), Superoksitdismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPX) düzeyleri literatürde daha önce belirtilen yöntemlerle ölçüldü (13-16).

İstatistiksel değerlendirme, Değerler ortalama ve standart sapma (SD) olarak verildi. Bağımsız gruplar arasındaki fark Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Korelasyon analizi Pearson testi ile yapıldı. Analizler için SPSS 10.0 (SPSS Inc.) kullanıldı.

Tablo 2. Kolon ve rektum kanserli hastaların tümör ve normal dokusundaki MDA, CAT, GPX, SOD değerleri

| | MDA(nmol/mg) Ortalama(sd) | CAT(IU/mg) Ortalama(sd) | GPX(mIU/mg) Ortalama(sd) | SOD(U/mg) Ortalama(sd) |
|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Kolon kanseri N=9 | 0.99(0.33) | 13.86(6.05) | 25.47(10.03) | 32(5.09) |
| Normal kolon dokusu N=9 | 1.28(1.1) | 11.23(6) | 18.34(11.24) | 28.18(5.9) |
| Rektum kanseri N=8 | 1.53(1.1) | 14.24(8.2) | 19.84(10.3) | 29.05(8.9) |
| Normal rektum dokusu N=8 | 1.81(0.2) | 12.48(6.29) | 23.96(13) | 25.92(6.2) |

BULGULAR

Kolon ve rektum kanseli hastaların tümör ve normal dokusundaki MDA, CAT, GPX, SOD düzeyleri Tablo 2 de gösterilmiştir.

Kolon kanserli hastalarda, tümör dokusundaki MDA, GPX, SOD ve CAT düzeyleri normal kolon dokusuna göre yüksek bulunmalarına karşın gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

Benzer şekilde, Rektum kanserli hastalarda, tümör dokusundaki MDA, GPX, SOD ve CAT düzeyleri normal rektum dokusuna göre yüksek bulunmalarına karşın gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

Kolon ve Rektum kanserli hastalarda tümör dokusundaki MDA, GPX, SOD ve CAT düzeyleri istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0.05$).

Hastaların cinsiyeti, tümör grade'i, TNM evreleri ile kolon ve rektum kanserli dokulardaki MDA, GPX, SOD ve CAT düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Kolon kanserli ve rektal kanserli hastalar beraber değerlendirildiğinde tümör dokusundaki SOD düzeyi ile yaş arasında anlamlı bir ilişki olduğu görüldü. ($r=-0.5707$, $p=0.017$). Ancak bu artış; evre, tümör derinliği, nodal tutulum ve grade ile korele değildi.

TARTIŞMA

Kolorektal kanser gelişiminde, mukozadaki oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Kolon lümenindeki SOR direkt genotoksik etkileri yanında fekal mutajen oluşmasına yol açarlar. Dietle alınan poliansatüre yağ asitleri kolon lümenindeki lipid hidroperoksitlerinin ana kaynağıdır. Gaytadaki bakterilerin oluşturduğu superoksit radikali demir varlığında hidroksil radikali oluşturur. Yine bilindiği gibi kolorektal kanserler inflamasyon sonrası gelişebilirler. İnflamasyon sırasında nötrofillerin oluşturduğu SOR bu mutajenik etkiye yol açar(1).

Skrzydewska ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 55 kolorektal kanserli hastada tümör ve normal dokuda oksidan ve antioksidan parametrelere bakılmış(1). Bu vakalarda tümör dokusunda katalaz azalırken MDA, SOD, GPX ve GSH nun

arttığını bulmuşlardır. Hendrickse ve arkadaşlarında 20 kolorektal kanserli hastada yaptıkları çalışmada tümör dokusunda MDA düzeyinin normal dokuya göre artmış olduğunu ve bu artışında istatistiksel olarak anlamlı olmasada özellikle Dukes C hastalarda daha fazla olduğunu göstermişlerdir(18). Bu çalışmada SOR yağ asitlerine etkisi ile oluşan MDA düzeyinin tümördeki PGE2 düzeyi ile korele olduğunu görmüşler ve burada MDA'nın fosfolipaz A2 enzim aktivitesini artırarak gerçekleştiğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda tümör dokusundaki oksidanlar ve antioksidanlarda normal dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı bunun örnek sayısının azlığından kaynaklandığı kanaatindeyiz. Bunun yanında tüm çalışmalarda kanserli hastaların tümör dokusu ve normal dokularından elde edilen değerler karşılaştırılmıştır. Bu nedenle bu tip çalışmalarda normal kolon mukozasının da eklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Tümör dokusundaki SOD düzeyleri hakkında ortak bir görüş yoktur. Bazı araştırmacılar tümörde SOD düzeyinin arttığını göstermişken(1), bazı araştırmacılar azaldığını göstermişlerdir(19). Skrzydewska ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tümörde SOD düzeyinin artması ve katalazın azalmasını tümörlerden salınan hidrojen peroksit bağlamışlardır(1). Satomi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da tümördeki SOD artışının evre, invazyon ve venöz tutulumla ilişkili olduğunu göstermişlerdir(21). Superoksit dismutaz enziminin izoformları vardır. İnsanda Cu/Zn SOD ve Mn SOD en yaygın izoformlardır, Janssen ve arkadaşlarının çalışmasında özellikle MnSOD in kolorektal kanserin karaciğer metastazlarında; adenom, karsinom ve normal dokuya göre yüksek bulunduğunu göstermişlerdir (12). Bizim çalışmamızda SOD düzeyi ile yaş arasında ters yönde bir ilişki olduğu görülmüştür. Ancak bu artışın evre, tümör derinliği, nodal tutulum ve grade ile korele olmadığı görülmüştür. Yaş ile olan bu ilişki erken yaşta görülen kolorektal kanserlerin, ileri yaşta görülenlere göre farklı biyolojik tavırları olduğunu ve salınan SOR'nin farklı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda kolorektal kanserde tümör dokusu ve normal dokudaki düzeyleri arasında fark gösterilmese de literatürde GPX değerlerinin kolorektal tümörlerde arttığı gösterilmiştir. Kolorektal kanserlerde GPX artışı SOD ile paralellik gös-

terirken, GSH ile arasındaki ilişki gösterilememiştir.

Kolorektal kanserli hastaların tümör dokusundan salınan hidrojen peroksit nedeniyle katalaz enzimi bu tümörlerde oldukça düşük düzeydedir. Bu konuda literatür görüşü ortaktır.

Bizim çalışmamızda parametreler arasında bulunmamakla beraber vitamin C ve vitamin E gibi nonenzimatik antioksidanların kolorektal kanserli hastaların tümör dokusunda oldukça azaldığı gösterilmiştir.

Oksidatif stres kolorektal kanser dışında bazı kronik kolorektal enflamasyonlarda da artmaktadır. Bu hastalıklara en tipik örnek ülseratif kolittir. Ülseratif kolitte kolon ve rektum mukozasında SOR'de artma antioksidanlarda azalma saptanmıştır (22).

KAYNAKLAR

1. Skrzydlewska E, Stankiewicz A, Sulkowska M. Antioxidant status and lipid peroxidation in colorectal cancer. *J.Toxicol. Environ.Health A* 2001;64(3):213-22.
2. Knight JA. Disease related to oxygen-derived free radicals. *Ann .Clin.Lab.Sci.* 1995;25(2):111-21.
3. Tez M. Siçanlarda hepatektomi sonrası oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarına _tokoferolün etkisi: UzmanlıkTezi. Ankara. 1999
4. Halliwell B. Free radical, antioxidants and human disease. *Lancet.* 1993;341(8859):1538.
5. Breimer LH. Molecular mechanisms of oxygen radical carcinogenesis and mutagenesis: the role of DNA base damage. *Mol Carcinogenesis* 1990;3(4):188-97.
6. Dreher D, Junod A.F. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur.J.Cancer.* 1996 ;32A(1):30-8.
7. Bulger EM, Helton WS. Nutrient antioxidants in gastrointestinal disease. *Gastroenterol.Clin.North Am.* 1998;27(2):403-19.
8. Halliwell B, Auroma OI. DNA damage by oxygen derived species. Its mechanisms of action and measurements in mammalian system. *FEBS Lett.* 1991 ;281(1-2):9-19.
9. Lindhal T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature.* 1993;362:709.
10. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett.* 1995 ;358(1):1-3.
11. Klauning JE, Xu Y, Isenberg JS et al. Toxicological defence mechanisms and the shape of dose response relationships. *Environ.Health.Perspect.* 1995;106[suppl 1]:289.
12. Janssen AM, Bosman CM, Kruidenier L. Superoxide dismutases in the human colorectal cancer sequence. *J.Cancer.Res.Clin.Oncol.* 1999;125:327-35
13. Dahle LK, Hill EG, Hollman RT. The thiobarbituric acid reaction and the autooxidants of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch. Biochem. Biophys.* 1962;98:253.
14. Durak I, Canbolat O, Kavutcu M, Ozturk HS. Activities of total, cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *J.Clin.Lab. Anal.* 1996;10(1):17-20.
15. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU (ed): *Methods of enzymatic analysis.* New York, Academic press. 1974
16. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967 ;70(1):158-69.
17. De Vita, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 6th Edition Published by Lippincott Williams & Wilkins ,Copyright 2001
18. Hendrickse CW, Kelly RW, Radley S. Lipid peroxidation and prostaglandins in colorectal cancer. *Br.J.Surg.* 1994 ;81(8):1219-23.
19. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radical.Biol.Med.* 1990;8(6):583-99.
20. Sztatrowski TP, Nathan CF. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Res.* 1991;51(3):794-8.
21. Satomi A, Murakami S, Hashimoto T, Ishida K, Matsuki M, Sonoda M. Significance of superoxide dismutase (SOD) in human colorectal cancer tissue: correlation with malignant intensity. *J Gastroenterol.* 1995 ;30(2):177-82.
22. Simmonds NJ, Rampton DS. Inflammatory bowel disease, a radical view. *Gut.* 1993;34(7):865-8.