

established in
2016



MAS JOURNAL of Applied Sciences

ISSN 2757-5675

DOI: <http://dx.doi.org/10.52520/masjaps.171>

Araştırma Makalesi

Deneysel Sıçan Kolon Kanseri Modelinde Bazı Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Araştırılması

Arzu KOÇAK MUTLU^{1*}, Dursun KISA², Necmettin YILMAZ³, Ercan ÇAÇAN³

¹Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Siirt

²Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın

³Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tokat

*Sorumlu yazar: arzukocak@siirt.edu.tr

Geliş Tarihi: 05.10.2021

Kabul Tarihi: 10.11.2021

Özet

Kolon (bağırsak) kanseri, dünyada ve ülkemizde en çok yaşam kaybına neden olan kanser türlerinden biri olup; yaygınlık bakımından da üçüncü sırada yer almaktadır. Kanserle ilgili yapılan araştırmalar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi olarak tanımlanan oksidatif stresin; hastalık sürecinde önemli rol oynadığına dikkat çekmekte ve vücudumuzda oluşan bu radikallere karşı savunmada; antioksidanların çok önemli bir yere sahip olduklarını göstermektedir. Mevcut bilgilerse henüz, kolon kanserinin oluşum ve gelişim aşamasındaki biyokimyasal mekanizmaları tam olarak açıklayamamaktadır. Dolayısıyla yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, bazı antioksidan enzimler ve tümör gelişimi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışmanın amacına yönelik olarak; kanser grubundaki Wistar Albino türü erkek sıçanlara, HT29 kolon karsinoma hücreleri enjekte edilerek tümör kitlesi oluşturulmuştur. Çalışmanın sonunda, kontrol ve kanser grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer, dalak, böbrek ve sağ flank (tümör kitlesi oluşturulan bölge) doku örneklerindeki; peroksidaz (POD), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Kanser ve kontrol gruplarının enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında; genel olarak karaciğer dokusunda anlamlı bir farklılık tespit edilmezken; tümörlü dalak dokusunda enzim aktivitelerinin nispeten düştüğü, tümörlü böbrek dokusunda ise POD aktivitesinin düştüğü CAT ve SOD aktivitelerinin nispeten yükseldiği gözlenmiştir. Tümör kitlesi oluşturulan sağ flank dokusunda ise; nispeten SOD ve POD aktivitelerinde azalış, CAT aktivitesinde ise artış tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kolon kanseri, HT29, Peroksidaz, Katalaz, Süperoksit dismutaz

Investigation of Some Antioxidant Enzyme Activities in an Experimental Colon Cancer Rat Model

Abstract

Colon (intestinal) cancer is one of the deadliest cancer types in the world and in Turkey, and it ranks third in terms of prevalence. Previous studies showed that oxidative stress, which is defined as the overproduction of reactive oxygen species (ROS), plays an important role in the cancer progression and that antioxidants play an important defense role against these radicals formed in our bodies. Current knowledge, however, cannot fully explain the biochemical mechanisms in the onset and development of colon cancer, and new research is needed. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the relationship between some antioxidant enzymes and tumor development. For this purpose, HT29 colon carcinoma cells were injected into male Wistar Albino rats to form a tumor mass. Peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activities were determined in tissue samples taken from liver, spleen, kidney and right flank (the region where tumor mass was formed) of rats in the control and cancer groups. In general, no significant difference was observed between the liver tissues of cancer and control groups. However, enzyme activities were relatively low in tumorous spleen tissue. In tumorous kidney tissue, on the other hand, POD activity decreased while CAT and SOD activities increased relatively. In right flank tissue where the tumor mass was formed, a relative decrease was observed in SOD and POD activities whereas CAT activity was increased.

Keywords: Colon cancer, HT29, Peroxidase, Catalase, Superoxide dismutase

GİRİŞ

Kanser, tüm dünyada ve ülkemizde insan sağlığını tehdit eden ve görülme sıklığı hızla artan çok önemli bir sağlık sorunudur (Yazgı ve Yılmaz, 2020). Yapılan çalışmalar kanserin kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci en yaygın ölüm nedeni olduğunu göstermektedir (Çiftçi, 2017). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2020 yılı verilerine göre; dünyada yılda yaklaşık 19 milyon yeni vakayla karşılaşıldığı ve bunların 10 milyonunun hastalığa bağlı olarak yaşamını kaybettiği bildirilmektedir (Özdoğan, 2020). 2030 yılına gelindiğinde; kanser vakasının 27 milyona, yıllık ölüm oranının 17 milyona kadar ulaşacağı tahmin edilmektedir (Türk, 2015). Kanser türleri içerisinde ise, kolon kanseri en sık görülen üçüncü kanser türü olup; yaklaşık her yıl 2 milyon yeni vakaya ve 900 bin ölüme yol açtığı bildirilmektedir (Özer, 2021). Hastaların tedaviye yanıtları incelendiğinde; 5 yıllık yaşam oranında çok az bir iyileşme sağlanabildiği görülmektedir (Terzi ve Ünek, 2004). Kolorektal kanser gelişiminde; ileri yaş, yaşam tarzı, diyet alışkanlığı gibi birçok risk faktörünün yanı sıra, oksidatif stres de yer almaktadır (Dusak, 2016). Oksidatif stres, hücrel metabolizma esnasında reaktif oksijen türlerinin artışı (ROS) ve onları detoksifiye eden antioksidanların yetersizliği sonucunda oluşarak, oksidatif dengenin bozulmasına neden olmaktadır (Özcan ve ark., 2015). Oksijen hayatın sürdürülebilmesinde çok önemli bir element olmasına karşın, besinlerin oksijen kullanarak enerjiye dönüşümü sırasında vücuda zararlı olan birçok ara ürün oluşmaktadır. Bu ara ürünler ROS olarak adlandırılmaktadır (Süleyman ve ark., 2018). ROS, oksijenden farklı olarak; atomlarında çift elektron bulundurmamaktadır. Bu sebeple kararsız bir yapıya sahiptir.

Ancak diğer maddelerle reaksiyona girerek kararlı duruma geçme eğilimindedir (Karabulut ve Gülay, 2016). Bu yüzden dokularda meydana gelen ROS; lipit, protein ve DNA gibi biyolojik açıdan önemli hücre bileşenlerine zarar vermektedir (Koca ve Karadeniz, 2003; Süleyman ve ark., 2018). Dolayısıyla ROS'un aşırı üretildiği ya da antioksidan savunmanın yetersiz kaldığı durumlarda, serbest radikaller; lipid peroksidasyon sürecini ve DNA hasarını başlatarak, hücrel hasara, kromozom kırıklarına ve sonuçta kanser gelişimine yol açmaktadır (Goldstein ve Witz, 1990; Başkol ve ark., 2007; Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015). Yapılan çalışmalar antioksidan enzim sistemindeki bozulmaların; ROS birikimine neden olabileceğini ve karsinogenezin başlaması ile sonuçlanabileceğini göstermektedir (Canbay ve ark., 2003). Yüksek miktarlardaki ROS'un zararlı (toksik) etkilerine karşın, düşük/orta konsantrasyonlardaki miktarları ise; hücreleri enfeksiyöz ajanlara karşı korumada, sinyal iletim yollarını biçimlendirmede ve mitojenik uyarılara karşı yanıtın başlatılmasında etkili olup; hücrelere yarar sağlamaktadır (Çiftçi, 2017). Dolayısıyla ROS aracılı mekanizmalar kullanılarak kanser hücrelerini seçici bir şekilde öldürmek için terapötik stratejilerin dizayn edilebileceği düşünülmektedir (Barrera, 2012). Yapılan çalışmalarda, karsinogenezin başlangıç ve artışında ROS'a işaret eden güçlü bulgulara rastlanılmaktadır (Cerutti, 1985). Reaktif oksijen türlerinden hidrojen peroksitin, kanserin başlaması ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Shamberger, 1972). Ayrıca ROS üreten bileşenlerin yer aldığı bazı tümör destekleyicilerin, pro-oksidan bir mekanizma vasıtasıyla etki gösterdikleri bildirilmektedir (Slaga ve ark., 1981; Schairer ve ark., 2000). ROS

kolon kanserinde karsinogenez sürecinde rol oynayan faktörler arasında da çok önemli bir yere sahiptir (Kanbagli ve ark., 2000; Skrzydlewska ve ark., 2003; Rainis ve ark., 2007; Strzelczyk ve ark., 2012). Kolon lümenindeki ROS'un direkt genotoksik etkileri yanında, fekal mutajen oluşmasına da yol açtığı tespit edilmiştir (Tez ve ark., 2005). Kolon kanseri, erken evrede belirlendiğinde; ölüm oranı düşük olan ve iyi bir cerrahi müdahale ile çoğunlukla küratif tedavi olabilen bir hastalıktır. Ancak çoğu vakada, ileri evrelerde tanı yapılmasından dolayı 5 yıllık yaşam süresi %8'i geçmemektedir (Compton, 2003; O'Connell ve ark., 2004; Küçüköner ve ark., 2013). Dolayısıyla erken tanı için, yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Kolon kanserinde antioksidan enzim aktivitesi konusunda yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bu bakımdan çalışmada kolon kanseri ile bazı antioksidanlar arasındaki ilişkilerin araştırılması sonucu elde edilecek verilerin; erken tanı ve tedavide literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Doku örneklerinin hazırlanması

Bu deneysel çalışma sırasında kullanılan 4 adet kontrol ve 8 adet HT-29 kolon kanser hücreleri enjekte edilerek oluşturulan tümör grubuna ait sıçan doku örnekleri "Kanser gelişiminin serum lipid kompozisyonuna etkisinin araştırılması" isimli (Koçak, 2015)'in doktora tezi kapsamında elde edilmiş olup; bu dokuların kullanılmasına yönelik olarak Siirt Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan (SİÜ-DEHAM) 2017/02/01 karar numaralı onay alınmıştır. Kullanım anına kadar -80° C'de muhafaza edilen kontrol ve tümör gruplarına ait karaciğer, dalak, böbrek ve sağ flank dokuları;

antioksidan aktivitenin tayini için hazırlanmıştır.

Enzim ekstratlarının hazırlanması

Hedeflenen çalışmaları gerçekleştirmek üzere dokulardan 200 mg örnek alınmıştır. Hazırlanan doku örnekleri 0.1 mM EDTA içeren 50 mM potasyum fosfat (pH=7) tampon ile homojenize edilmiştir. Homojenizat 15000xg'de, +4°C'de, 20 dakika santrifüj edildikten sonra oluşan süpernatant, dokularda CAT, POD ve SOD enzim aktivitelerinin tayini için kullanılmıştır.

Katalaz aktivitesinin tayini

CAT, reaksiyon ortamındaki H₂O₂'nin su ve oksijene parçalanması esnasında meydana gelen absorbans azalmasının spektrofotometrik olarak 240 nm'de ölçülmesiyle belirlenmiştir (Aebi, 1984). 25 mM fosfat tamponu (pH=7), 10 mM H₂O₂ içeren reaksiyon karışımına 10 µl enzim ekstraktı ilave edilerek absorbansdaki değişim incelenmiştir (Aebi, 1984). H₂O₂ konsantrasyonu 10.3 mM'den 9.2 mM'ye düşerken, 25 °C'de pH=7'de 1.0 mikromol H₂O₂'i 1 dakikada ürüne dönüştüren enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiştir. H₂O₂'nin yok olma oranı, 240 nm'de absorbansdaki azalma oranı gözlemlenmiştir.

Peroksidaz aktivitesinin tayini

POD aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat (pH=6.5), 22 mM H₂O₂ ve 30 mM guaiacol ihtiva eden reaksiyon karışımına 50 µl enzim ekstraktı ilave edilerek oluşan renk değişiminin 470 nm'de absorbansının okunmasıyla tayin edilmiştir (Borisov ve ark., 2010). 1 enzim ünitesi, 25°C'de pH=7'de dakikada 1.0 birim absorbansa yükseltecek enzim miktarı, substrat olarak guaiacol kullanılarak başlangıç reaksiyon oranından hesaplanmıştır.

Superoksit dismutaz aktivite tayini

SOD aktivitesi, Beyer ve Fridovich (1987) metoduna göre belirlenmiş olup; aktivite tayini süperoksit anyonları ile nitroblue tetrazoliumun farmazon

oluşturması ve bu bileşiğin 560 nm’de absorbanı vermesi esasına dayanmaktadır. Reaksiyon karışımına, 50 mM fosfat tamponu (pH=7.8), 13 mM metiyonin, 60 µM nitroblue tetrazolium, 0.1 mM EDTA ve 50 µl enzim ekstratı eklenmiştir. Son olarak 2 µM riboflavin ilave edilmiş ve 30 dakika ışıktaki (4000-5000 lux) bekletilmiştir. Işık kapatılarak reaksiyon durdurulmuş ve 560 nm’deki absorban artışını %50 inhibe eden enzim miktarı bir enzim ünitesi olarak kabul edilmiştir.

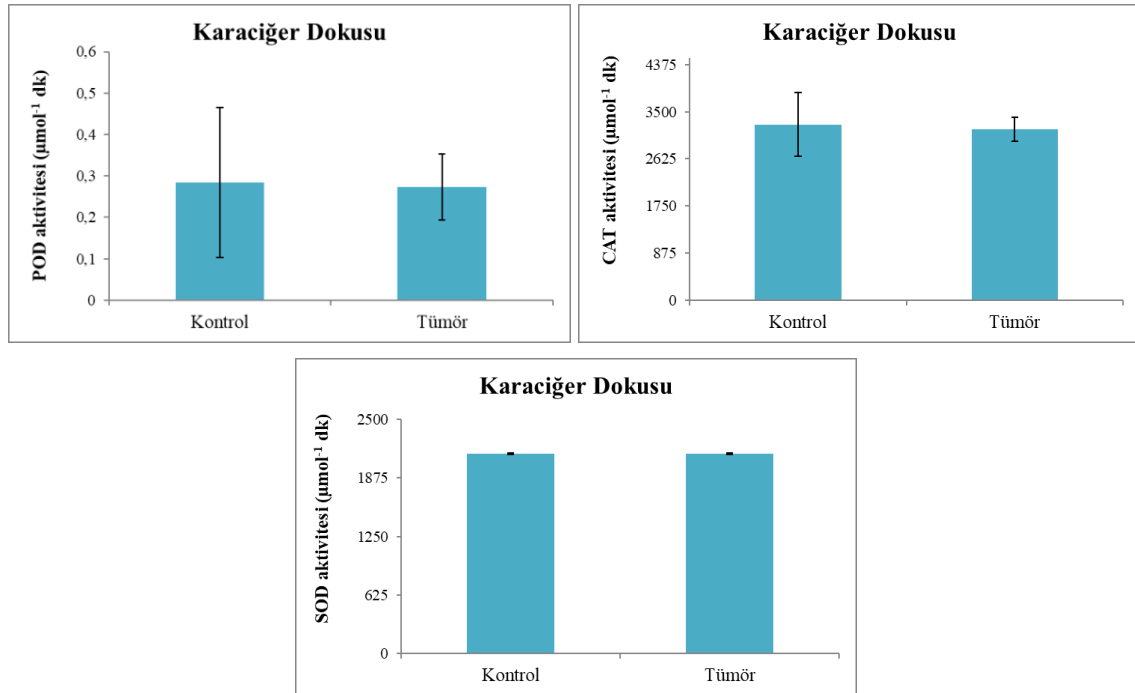
Veri analizi

Gruplar arası grafikler, tümör ve kontrol grubu parametreleri ortalaması (X), standart sapma (Sx) olmak üzere (X±Sx) değerleri bulunarak hazırlanmıştır (P<0.05). Aritmetik ortalama ve standart sapma, SPSS programı kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

Karaciğer dokusu enzim aktiviteleri

Karaciğer dokularında yapılan antioksidan enzim çalışmalarından elde edilen sonuçlar Şekil 1’de gösterilmiştir. Bulgular, ortalama±SD olarak verilmiş olup; kontrol ve tümör gruplarına ait karaciğer dokusu enzim aktiviteleri sırasıyla; POD için 0.285±0.1811 ve 0.274±0.0796 EU/mL; CAT için 3260±590.4 ve 3176±220.77 EU/mL; SOD için 2133.293±7.921 ve 2133.294±5.232 EU/mL elde edilmiştir. Tümör grubunun karaciğer dokusundaki POD, CAT ve SOD aktivitelerini, kontrol grubuna göre kıyasladığımızda; genel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

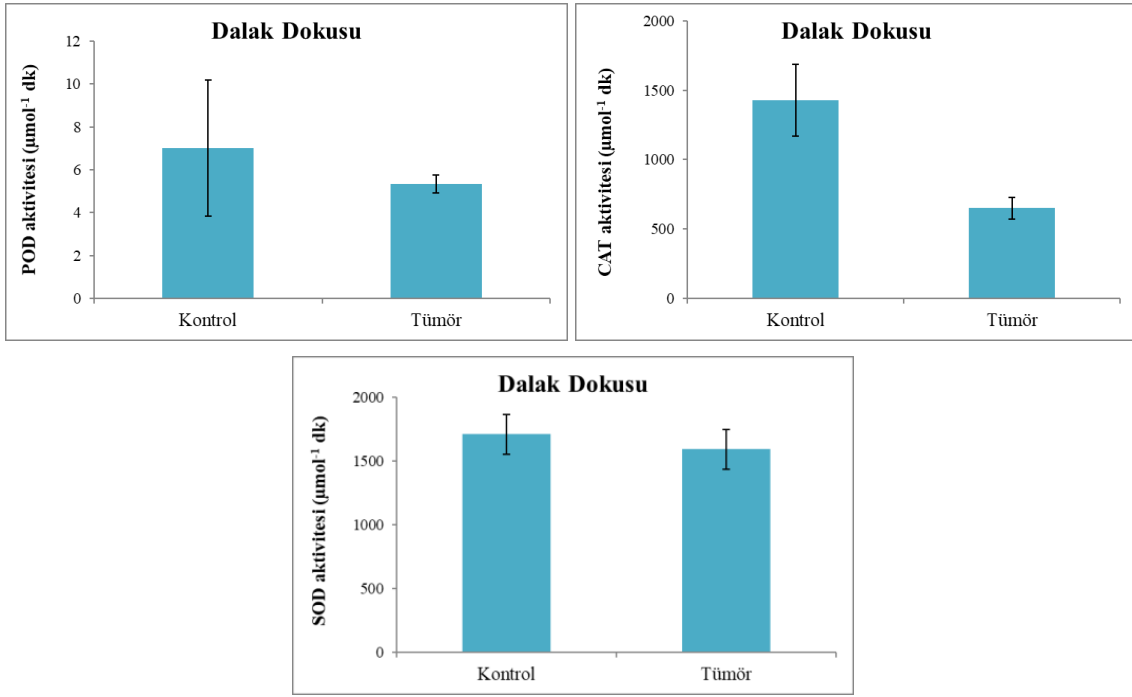


Şekil 1. Kontrol ve HT29 kolon kanser hücresi enjekte edilen tümör grubu sıçanlarda karaciğer dokusu enzim aktiviteleri (a: POD aktivitesi; b: CAT aktivitesi; c: SOD aktivitesi).

Dalak Dokusu Enzim Aktiviteleri

Dalak dokularında yapılan antioksidan enzim çalışmalarından elde edilen sonuçlar Şekil 2’de gösterilmiştir. Bulgular, ortalama±SD olarak verilmiş olup; kontrol ve tümör gruplarına ait dalak dokusu enzim aktiviteleri sırasıyla; POD için 7.026 ± 3.176 ve 5.348 ± 0.417 EU/mL; CAT için 1428.576 ± 257.806 ve

650.045 ± 78.913 EU/mL; SOD için 1709.715 ± 153.182 ve 1592.417 ± 157.8135 EU/mL elde edilmiştir. Tümör grubunun dalak dokusundaki POD, CAT ve SOD aktivitelerini, kontrol grubuna göre kıyasladığımızda; nispeten azaldığı tespit edilmiştir.

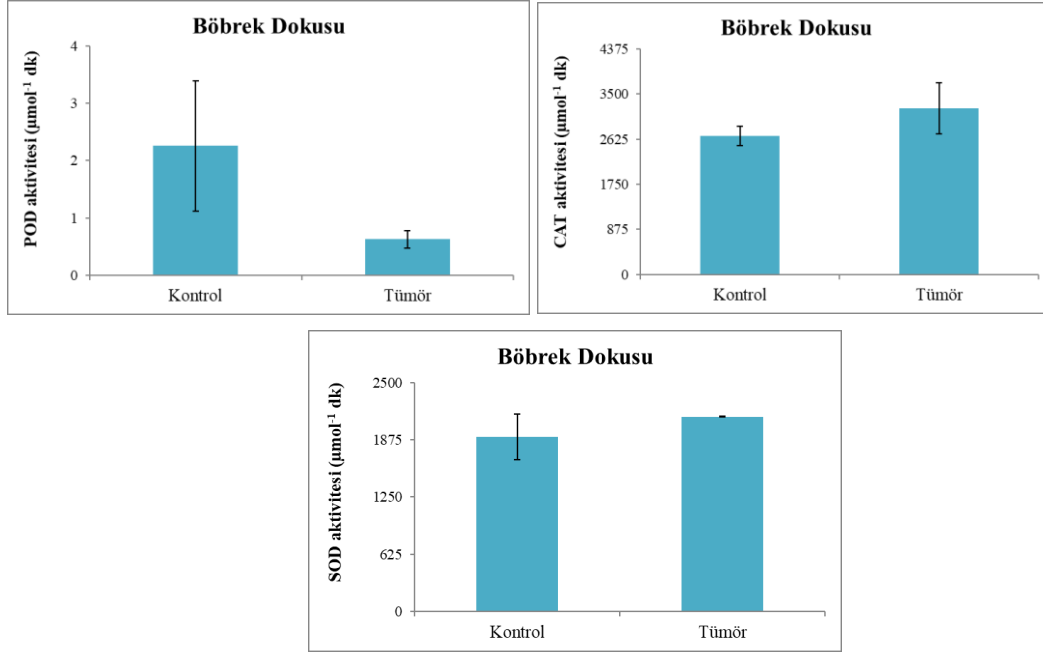


Şekil 2. Kontrol ve HT29 kolon kanser hücresi enjekte edilen tümör grubu sıçanlarda dalak dokusu enzim aktiviteleri (a: POD aktivitesi; b: CAT aktivitesi; c: SOD aktivitesi).

Böbrek Dokusu Enzim Aktiviteleri

Böbrek dokularında yapılan antioksidan enzim çalışmalarından elde edilen sonuçlar Şekil 3’de gösterilmiştir. Bulgular, ortalama±SD olarak verilmiş olup; kontrol ve tümör gruplarına ait böbrek dokusu enzim aktiviteleri sırasıyla; POD için 2.256 ± 1.136 ve 0.626 ± 0.154 EU/mL; CAT için

2684.886 ± 187.822 ve 3219.770 ± 497.091 EU/mL; SOD için 1904.620 ± 248.250 ve 2126.777 ± 2.902 EU/mL elde edilmiştir. Tümör grubunun böbrek dokusundaki POD aktivitelerini; kontrol grubuna göre kıyasladığımızda azaldığı, CAT ve SOD aktivitelerinin ise nispeten arttığı tespit edilmiştir.

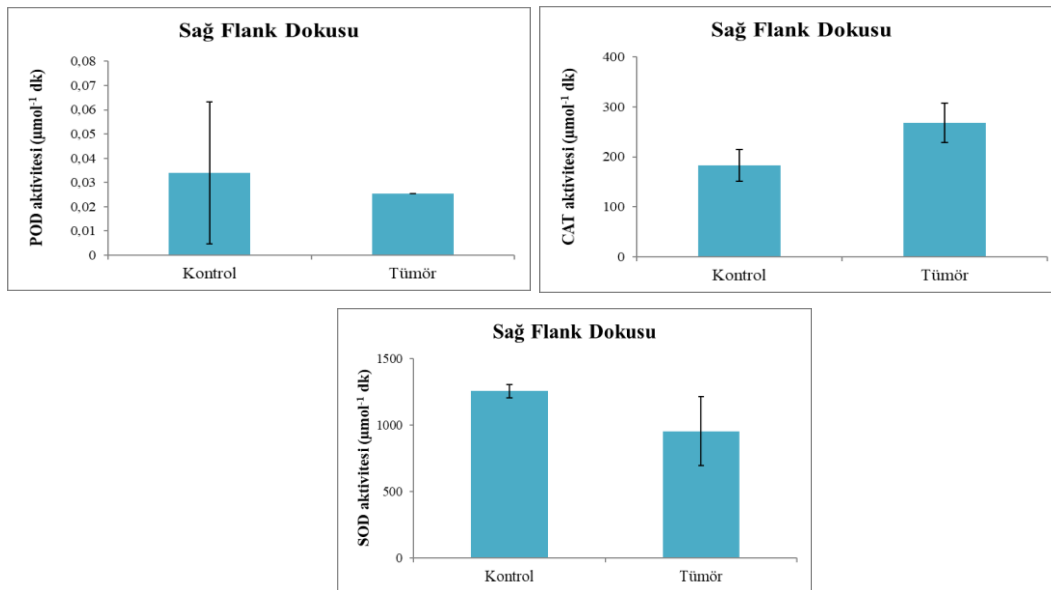


Şekil 3. Kontrol ve HT29 kolon kanser hücresi enjekte edilen tümör grubu sıçanlarda böbrek dokusu enzim aktiviteleri (a: POD aktivitesi; b: CAT aktivitesi; c: SOD aktivitesi).

Sağ Flank Dokusu Enzim Aktiviteleri

Sağ flank dokularında yapılan antioksidan enzim çalışmalarından elde edilen sonuçlar Şekil 4’de gösterilmiştir. Bulgular, ortalama±SD olarak verilmiş olup; kontrol ve tümör gruplarına ait sağ flank enzim aktiviteleri sırasıyla; POD için 0.033 ± 0.03 ve 0.025 ± 0.00 EU/mL;

CAT için 182.736 ± 31.794 ve 268.393 ± 39.563 EU/mL; SOD için 1255.924 ± 51.427 ve 954.976 ± 258.926 EU/mL elde edilmiştir. Tümör grubunun sağ flank dokusundaki POD ve SOD aktivitelerini, kontrol grubuna göre kıyasladığımızda; aktivitelerin azaldığı, CAT'ın ise arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4. Kontrol ve HT29 kolon kanser hücresi enjekte edilen tümör grubu sıçanlarda sağ flank dokusu enzim aktiviteleri (a: POD aktivitesi; b: CAT aktivitesi; c: SOD aktivitesi).

TARTIŞMA

ROS'daki artışa bağlı olarak vücuttan toksik maddeleri uzaklaştıracak antioksidanlar azalmakta ve hücre içi protein, lipid ve DNA gibi önemli biyolojik molekülde yıkımlanmaya neden olan oksidatif denge bozulmaktadır. Bunun sonucunda da hücre hasarı veya hücre ölümü meydana gelmektedir. Dolayısıyla ROS, kanser sürecinde rol oynamakta olup; vücudumuzda oluşan bu radikallere karşı savunmada; antioksidanlar çok önemli bir yere sahiptir (Canbay ve ark., 2003; Özcan ve ark., 2015; Dusak, 2016; Kurtdede ve ark., 2018; Aslankoç ve ark., 2019). Diğer yandan yaygın inanın tersine antioksidanların kanser hücrelerinin yayılmasına neden olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Le Gal ve ark., 2015; Wiel ve ark., 2019). Peskin ve ark. (1976, 1977) akciğer kanserinde yaptıkları çalışmada; sitozolik SOD'un normal homolog dokuya oranla 0.1-1.2 oranında azaldığını tespit etmişlerdir. Jaruga ve ark. (1994) akciğer kanserli dokuda; serbest radikallere bağlı olarak; SOD ve CAT aktivitesinde düşüş saptarken, DNA'da lezyon halinde artışlar gözlemlenmiştir. Tang (1991), Bronkoalveolar lavajla (BAL) yaptıkları çalışmada; akciğer kanserli hastalarda SOD ve CAT aktivitesinde düşüş tespit etmişlerdir. Benzer şekilde akciğer kanserli hastalarda Zhang ve Zhang (1993) da; eritrosit SOD aktivitesinde anlamlı bir düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Güner ve ark. (1996) sağlıklı dokulara göre; akciğer kanserli hastaların SOD ve CAT düzeylerini düşük olarak belirlemişlerdir. İşlekel ve ark. (1996) da, aynı sonucu elde etmişlerdir. Bu çalışmalardan farklı olarak; Kaynak (2002) normal akciğer dokusundaki SOD değerini, kanserli dokudaki SOD değerine göre daha düşük bulmuştur. Şahin ve ark. (1999) ise;

akciğer kanserli hastalarda SOD düzeylerinde anlamlı bir değişiklik tespit etmemişlerdir. Oberley ve ark. (1978) SOD düzeyinin, sağlıklı karaciğer dokusuna nazaran hepatomalı dokularda azaldığını göstermişlerdir. Lankin ve ark. (1976) meme kanseri kökenli Ehrlich's karsinomada, SOD aktivitesinde anlamlı bir düşüş gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Solmaz ve ark. (2001) baş-boyun epidermoid kanserinde normal ve tümoral dokuyu karşılaştırdıkları çalışmalarında; tümoral dokuda CAT ve SOD enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş olduğunu ve evre ilerledikçe enzim aktivitelerinin giderek azaldığını bildirmişlerdir. Yarıkaş ve ark. (2003)'ün yaptıkları çalışmada ise; hastaların SOD aktiviteleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunurken, CAT aktivitelerinin azaldığı gözlenmiştir. Canbolat ve ark. (1994) ise; larenks kanserli hastalarda; SOD enziminin serum aktivitesini, kontrole göre yüksek belirlemişlerdir. Gür ve ark. (2005) hipertiroidili hastaların tedavi öncesi ve sonrası eritrosit SOD ve CAT aktivitelerini karşılaştırdıkları çalışmalarında; enzim değerlerini hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Enzim aktiviteleri propiltiyoürasil tedavisinden sonra kontrol ile karşılaştırıldığında ise; CAT'ta hafif bir azalma bulunmuştur. Lipid peroksidasyonuyla enzim aktiviteleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise; meme tümör dokusunda CAT aktivitesi sağlıklı dokulara göre anlamlı olarak yüksek belirlenmiştir. Enzim aktivitesindeki artışların, kanserli hücrelerde enzim ekspresyonundaki artmaya bağlı olabileceği düşünülmektedir (Yılmaz ve Ozan, 2003). Strzelczyk ve ark. (2012) kolorektal adenokarsinomlu hastalarda yaptığı çalışmada normal mukozaya

göre SOD'un önemli ölçüde yüksek olduğunu, CAT aktivitesinde ise önemli bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Dusak (2016)'in yaptığı çalışmada, kolon kanseri hastalarında malondialdehid (MDA), SOD, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmesine karşın; glutatyon (GSH) düzeylerinde düşüş gözlemlenmiştir. Nayak ve ark. (2005) ise; kolorektal kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada; MDA seviyelerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Rainis ve ark. (2007) kolon dokusunda lökosit enzimleri olan nötrofil miyeloperoksidaz (MPO) ve adenozin deaminaz (ADA) düzeylerine bakmışlar ve enzim düzeylerini sağlıklı dokuya göre neoplastik kolon dokusunda yüksek bulmuşlardır. Kaya ve ark. (2012), sağlıklı kişilerle kolorektal kanserli hastaları karşılaştırdığında; hasta grubunda serum MDA, plazma MPO, plazma nitrotirozin (NT) ve nitrik oksit (NO) düzeylerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlar ve kolorektal kanserde oksidatif ve nitrozatif stresin etkili olduğunu göstermişlerdir. Kanbağlı ve ark. (2000); kolorektal kanserli hastalarda mitokondriyal SOD, GSH-Px ve glutatyon s-transferaz (GST) aktivitelerinin arttığını, lipid peroksidasyon ürünleri ve antioksidatif enzimlerin aktivitelerinin arttığını, katalaz aktivitesinin düştüğünü belirlemişlerdir. Hendricks ve ark. (1994) da, kolon kanserli hastalarda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını bildirmişlerdir. Tez ve ark. (2005) kolorektal kanserli hastalarda yaptıkları çalışmalarında, oksidatif stres bakımından tümörlü ve normal dokuda fark bulmamışlardır.

SONUÇ

Bu çalışmada; deneysel oluşturulan kolon kanser modelinde antioksidan parametrelerin bir göstergesi olan; SOD, POD ve CAT enzim seviyeleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar karaciğerin, ilaçlara ve toksik maddelere maruz kalan bir organ olmakla birlikte; hastalıklardan da etkilendiğini göstermektedir (Tekeli, 2012). Çalışmamızda ise; kanser ve kontrol gruplarının enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında; genel olarak karaciğer dokusunda anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Yapılan çalışmalarda diğer organlar ile karşılaştırıldığında; dalağın yapısı nedeni ile metastazlara karşı dirençli olduğu; bu sebeple de tüm organ maligniteleri içinde çok nadir görüldüğü bildirilmektedir. Dalak metastazları, genellikle yaygın bir hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Kolorektal tümörlerin de dahil olduğu meme, over, akciğer ve malign melanoma; dalak metastazlarının en sık görüldüğü primer tümörlerdir (Kızılgöz ve ark., 2017). Çalışmamızda kanserli gruba ait dalak dokusunda düşük çıkan aktiviteler; kolorektal kanser için metastaz ihtimalini düşündürmektedir. Ayrıca artan hidrojenperoksidin enzimleri inaktif hale dönüştürmüş olabileceği ihtimali de bulunmaktadır. Aktivitelerdeki bu azalışların, enzimlerin reaksiyonlar esnasında fazla miktarda kullanılmasından kaynaklanabileceği de düşünülmektedir. Çalışmamızda kanser grubunun böbrek dokusunda yüksek çıkan SOD aktivitesinin, tümörlü hücrelerdeki hızlı DNA sentezine ve salvaj yolun aktivitesinin azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kanserle birlikte artan oksidatif stresin de; süperoksit ve hidrojen peroksid konsantrasyonlarını artırdığı için, SOD aktivitesini yükseltebileceği

bildirilmektedir (Durak ve ark., 1993; Skrzydlewska ve ark., 2003; Yarıktaş ve ark., 2003; Dusak, 2016). Burada artan radikallerin ortadan kaldırılmasında, antioksidan savunma sisteminin aktive olabileceği ihtimali de bulunmaktadır. Bununla birlikte artan hidrojenperoksiti, SOD'un tek başına doyuramayacağı dolayısıyla CAT'ın yardımcı olabileceği de düşünülmektedir. Çünkü yapılan çalışmalarda CAT enziminin genellikle SOD ile pozitif korele bir ilişki içerisinde olduğu bildirilmektedir (Güçyener, 2009). Ayrıca kanserdeki SOD yükselişinin; evre, invazyon ve venöz tutulumla alakalı olabileceği de düşünülmektedir (Satomi ve ark., 1995). Çalışmamızda tümör hücresi enjekte edilen sağ flank dokusunda ise; SOD ve POD enzimleri inaktif hale geçerken, CAT enziminin aktif olduğu görülmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda kontrol ile kanser grupları karşılaştırıldığında; genel olarak karaciğerde çalışılan tüm enzimlerin aktivitelerinde önemli bir değişim tespit edilmezken, diğer dokularda söz konusu enzimlerin aktivitelerinde farklılıklar gözlenmiştir. Gerek çalışmamız gerekse literatürdeki bilgiler göz önünde bulundurulduğunda; antioksidan enzim düzeyleri üzerine bir fikirde uzlaşılma, ancak kanser ve çeşitli hastalıkların bu enzimlerin düzeylerinde değişikliklere neden olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla antioksidan enzimlerin kanser tedavisindeki rollerinin anlaşılması için yeni araştırmalara gereksinim vardır. Bu sebeple hastalık gelişiminde rol oynayabilecek metabolik yollardaki ya da antioksidan enzimleri kodlayan genlerdeki değişikliklerin araştırılmasının hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde mutlak gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

ACIKLAMA

Bu çalışma; "HT29 Hücre Hatları Kullanılarak Oluşturulan Deneysel Kolon Kanseri Modelinde Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Araştırılması" başlığı altında "EurasianBioChem 2018" Konferansında sözlü olarak sunulmuş ve bildiri kitabında özet metin olarak basılmıştır. (EurasianBioChem 2018; s.378).

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya desteklerinden dolayı Siirt Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz. (2017-SİÜZİR-30).

KAYNAKLAR

- Aebi, H. 1984. Catalase in Vitro. Methods in Enzymol, 105: 121–126.
- Aslançoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E.Ş., Yılmaz, B. 2019. Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü-Süperoksit Dismutaz (Sod), Katalaz (Cat) Ve Glutatyon Peroksidaz (Gpx). SDÜ Tıp Fak Derg., 26 (3): 362-369.
- Barrera, G. 2012. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. ISRN Oncology, 2012, 137289.
- Başkol, M., Başkol, G., Koçer, D., Artıç, T., Yılmaz, Z. 2007. Mide Kanseri Hastalarda Oksidan ve Antioksidan Parametreler ve Birbiriyle İlişkileri. Türk Klinik Biyokimya Derg., 5 (3): 83-89.
- Beyer, W.F., Fridovich, I. 1987. Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions. Anal Biochem., 161 (2): 559-566.
- Borisov, V.B., Davletshin, A.I., Konstantinov, A.A. 2010. Peroxidase Activity of Cytochrome bd from *Escherichia coli*. Biochemistry (Mosc), 75 (4): 428-436.

- Büyükuslu, N., Yiğitbaşı, T. 2015. Reaktif Oksijen Türleri ve Obezitede Oksidatif Stres. MÜSBED, 5 (3): 197-203.
- Canbay, E., Çelik, K., Dökmetaş, S., Karadayı, K., Turan, M., Keleştemur, F., Şen, M. 2003. Tiroid Kanseri Hastalarda Değişen Antioksidan Enzim Aktivitesi ve Lipid Peroksidasyonu. Cumhuriyet Üniv. Tıp Fak. Derg., 25 (4): 151-156.
- Canbolat, O., Akyol, O., Kavutcu, M., Isik, A.U., Durak, I. 1994. Serum Adenosine Deaminase and Total Superoxide Dismutase Activities Before and After Surgical Removal of Cancerous Laryngeal Tissue. J Laryngol Otol., 108 (10): 849-851.
- Cerutti, P.A. 1985. Prooxidant States and Tumor Promotion. Science, 227 (4685): 375-381.
- Compton, C.C. 2003. Colorectal Carcinoma: Diagnostic, Prognostic, and Molecular Features. Mod Pathol., 16 (4): 376-388.
- Çiftçi, N. 2017. Oksidatif Stresin Kanserdeki Rolü: Antioksidanlar Kanseri Progresyonunun Yakıtı Olabilir mi?. Ahi Evran Tıp Dergisi, 1: 8-13.
- Durak, I., Isik, A.C., Canbolat, O., Akyol, O., Kavutcu, M. 1993. Adenosine Deaminase, 5' Nucleotidase, Xanthine Oxidase, Superoxide Dismutase, and Catalase Activities in Cancerous and Noncancerous Human Laryngeal Tissues. Free Radic Biol Med., 15 (6): 681-684.
- Dusak, A. 2016. Kolon Kanseri Hastalarda Bazı Antioksidan Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 85s.
- Goldstein, B.D., Witz, G. 1990. Free Radicals and Carcinogenesis. Free Radic Res Commun., 11 (1-3): 3-10.
- Güçyener, E. 2009. Katalaz-262 C/T Polimorfizminin Baş Boyun Bölgesi Kanseri Hastalarda Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 88s.
- Güner, G., İşlekel, H., Oto, Ö., Hazan, E., Açıklık, U. 1996. Evaluation of Some Antioxidant Enzymes in Lung Carcinoma Tissue. Cancer Lett., 103 (2): 233-239.
- Gür, B., Halifeoğlu, İ., Telo, S., Tolun, F. İ., 2005. Hipertiroid Hastalarda Tedavi Öncesi ve Sonrası Malondialdehit ve Antioksidan Enzim Düzeyleri. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg., 19 (3): 221-226.
- Hendrickse, C.W., Kelly, R.W., Radley, S., Donovan, I. A., Keighley, M. R., Neoptolemos, J.P. 1994. Lipid Peroxidation and Prostaglandins in Colorectal Cancer. Br. J. Surg., 81 (8): 1219-1223.
- İşlekel, H., Güner, G., Oto, Ö., Aydın, C., Hazan, E., Gülay, H., Açıklık, Ü. 1996. İnsan Karsinoma Dokularında Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Düzeyleri. XIII. Ulusal Biyokimya Kongresi, 26-30 Mart, Antalya: 361.
- Jaruga, P., Zastawny, T.H., Skokowski, J., Dizdaroğlu, M., Olinski, R. 1994. Oxidative DNA Base Damage and Antioxidant Enzyme Activities in Human Lung Cancer. FEBS Lett., 341 (1): 59-64.
- Kanbagli, O., Ozdemirler, G., Bulut, T., Yamaner, S., Aykac-Toker, G., Uysal, M. 2000. Mitochondrial Lipid Peroxides and Antioxidant Enzymes in Colorectal Adenocarcinoma Tissues. Jpn J Cancer Res., 91 (12): 1258–1263.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş. 2016. Serbest Radikaller. MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg., 4 (1): 50-59.

- Kaya S., Eskiocak, S., Tezel, H. A., Soylu, A. R., Ümit, H. C., Özdemir S., Türkyılmaz Z. 2012. Kolorektal Kanseri Olgularında Oksidatif Ve Nitrozatif Stres. *Türk Klinik Biyokimya Derg.*, 10 (2): 57-63.
- Kaynak, K. 2002. Akciğer Kanseri Oksidatif Hasarın Rolü. *Solunum*, 4 (4): 468- 473.
- Kızılgöz, D., Kabalak, P.A., Cengiz, T.İ., Yılmaz, Ü. 2017. Akciğer Kanseri Dalak Metastazi. *Türkiye Klinikleri Arch Lung.*, 18 (2): 47-51.
- Koca, N., Karadeniz, F. 2003. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16 (Aralık/2003): 32-37.
- Koçak, A. 2015. Kanser Gelişiminin Serum Lipid Kompozisyonuna Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 133s.
- Kurtkede, E., Pekcan, M. ve Karagül, H. 2018. Florun Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres ile İlişkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13 (3): 373-379.
- Küçüköner, M., Kaplan, M. A., İnal, A., Urakçı, Z., Nas, N., Önder, A., Keleş, A., Büyükbayram, H., Işıkdogan, A. 2013. Kolorektal Kanseri: Tek Merkez 12 Yıllık Sonuçları. *J Clin Exp Invest.*, 4(2): 208-212.
- Lankin, V. Z., Gurevich, S.M. 1976. Inhibition of Lipid Peroxidation and Detoxification of Lipoperoxides by Protective Enzymes (Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, and Glutathione Reductase) during Experimental Neoplastic Growth. *Dokl Akad Nauk SSSR.*, 226 (3): 705-708.
- Le Gal, K., Ibrahim, M. X., Wiel, C., Sayın, V. I., Akula, M. K., Karlsson, C., Dalin, M. G., Akyürek, L.M., Lindahl, P., Nilsson, J., Bergo, M. O. 2015. Antioxidants Can Increase Melanoma Metastasis in Mice. *Sci Transl Med.*, 7 (308): 308re8.
- Nayak, S.B., Yashwanth, S., Pinto, S.M., Bhat, V.R., Mayya, S.S. 2005. Serum Copper, Ceruloplasmin, Protein Thiols and Thiobarbituric Acid Reactive Substance Status in Liver Cancer Associated with Elevated Levels of Alpha-Fetoprotein. *Indian J Physiol Pharmacol*, 49 (3): 341-344.
- Oberley, L.W., Bize, I.B., Sahu, S.K. 1978. Superoxide Dismutase Activity of Normal Murine Liver, Regenerating Liver, and H6 Hepatoma. *J Natl Cancer Inst.*, 61 (2): 375-379.
- O'Connell, J.B., Maggard, M.A., Ko, C.Y. 2004. Colon Cancer Survival Rates with the New American Joint Committee on Cancer Sixth Edition Staging. *J Natl Cancer Inst*, 96 (19): 1420-1425.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. 2015. Oksidatif Stres ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3): 331-336.
- Özdoğan, M. 2020. <https://www.drozdogan.com/turkiye-kanser-istatistikleri-2020/> [Erişim Tarihi: 19.11.2021]
- Özer, B. 2021. <https://www.aa.com.tr/tr/saglik/kolon-kanseri-erkeklerde-ve-kadinlarda-en-sik-gorulen-3-kanser-turu/2186626> [Erişim Tarihi: 19.11.2021]
- Peskin, A.V., Zbarsky, I. B., Konstantinov, A. A. 1976. An Examination of the Superoxide Dismutase Activity in Tumor Tissue. *Dokl Akad Nauk SSSR.*, 229: 751-754.
- Peskin, A.V., Koen, Y. M., Zbarsky, I.B. 1977. Superoxide Dismutase Activity in Tumors. *FEBS Lett.*, 78 (1): 41-45.

- Rainis, T., Maor, I., Lanir, A., Shnizer, S., Lavy, A. 2007. Enhanced Oxidative Stress and Leucocyte Activation in Neoplastic Tissues of The Colon. *Dig Dis Sci.*, 52: 526-530.
- Satomi, A., Murakami, S., Hashimoto, T. Ishida, K., Matsuki, M., Sonoda M. 1995. Significance of Superoxide Dismutase (SOD) in Human Colorectal Cancer Tissue: Correlation with Malignant Intensity. *J Gastroenterol*, 30 (2): 177-182.
- Schairer, C., Lubin, J., Troisi, R., Sturgeon, S., Brinton, L., Hoover, R. 2000. Menopausal Estrogen and Estrogen-Progestin Replacement Therapy and Breast Cancer Risk. *JAMA*, 283 (4): 485-491.
- Shamberger, R.J. 1972. Increase of Peroxidation in Carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.*, 48 (5): 1491-1497.
- Skrzydłowska, E., Kozusko, B., Sulkowska, M., Bogdan, Z., Kozłowski, M., Snarska, J., Puchalski, Z., Sulkowski, S., Skrzydłowski, Z. 2003. Antioxidant Potential in Esophageal, Stomach and Colorectal Cancers. *Hepatogastroenterology*, 50 (49): 126-131.
- Skrzydłowska, E., Sulkowski, S., Koda, M., Zalewski, B., Kanczuga-Koda, L., Sulkowska, M. 2005. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Colorectal Cancer. *World J Gastroenterol*, 11 (3): 403-406.
- Slaga, T.J., Klein-Szanto, A.J., Triplett, L.L., Yotti, L.P., Trosko, K.E. 1981. Skin Tumor-Promoting Activity of Benzoyl Peroxide, A Widely Used Free Radical-Generating Compound. *Science*, 213 (4511): 1023-5.
- Solmaz, F., Aktaş, D., Kızılay, A., Çokkeser, Y., Öncel, S., Özturan, O., Özyurt, H., Söğüt, S. 2001. Baş-Boyun Epidermoid Kanserinde Dokudaki Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Aktiviteleri ve Malondialdehit Düzeyleri. *KBB İhtisas Dergisi*, 8 (5): 397-401.
- Strzelczyk, J.K., Wielkoszyński, T., Krakowczyk, Ł., Adamek, B., Zalewska-Ziob, M., Gawron, K., Kasperczyk, J., Wiczowski, A. 2012. The Activity of Antioxidant Enzymes in Colorectal Adenocarcinoma and Corresponding Normal Mucosa. *Acta Biochim Pol.*, 59 (4): 549-556.
- Süleyman, H., Gül, V., Erhan, E. 2018. Oksidatif Stres ve Doku Hasarı. *Erzincan Tıp Dergisi*, 1 (1): 1-4.
- Şahin, Ü., Tahan, V., Akkaya, A., Ünlü, M., Sekreter, M. 1999. Primer Akciğer Kanserlerinde Lipid Peroksidasyonu ve Eritrosit Antioksidan Enzim Aktivitesi. *Tüberküloz ve Toraks*, 47 (1): 31-35.
- Tang, Z.P. 1991. Observation on the Activity of Superoxide Dismutase and Catalase of Alveolar Macrophage in Patients with Lung Cancer. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*, 14 (4): 213-5.
- Tekeli, H. 2012. Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Glutatyon (Gsh) ve Glutatyon Stransferaz (Gst) Aktivitesi Üzerine N-Asetil Sisteinin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 87s.
- Terzi, C., Ünek, T. 2004. Kolon Kanserinde Cerrahi Tedavi. *Türkiye Klinikleri J Surgery*, 9 (1): 71-80.
- Tez, M. Göçmen, E., Koç, M., Akgül, H., 2005. Kolektoral Kanserde Oksidatif Stres (Erken Sonuçlar). *Selçuk Tıp Dergisi*, 21 (3): 79-82.
- Türk, S. 2015. Kolon Kanserinin Erken Tanısına Yönelik Tutumların Sağlık İnanç Modeline Temellendirilerek İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar

- Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Manisa, 99s.
- Wiel, C., Le Gal, K., Ibrahim, M.X., Jahangir, C.A., Ziegler, D.V., Kashif, M., Yao, H., Ziegler, D.V., Xu, X., Ghosh, T., Mondal, T., Kanduri, C., Lindahl, P., Sayin, V.I., Bergo, M.O. 2019. BACH1 Stabilization by Antioxidants Stimulates Lung Cancer Metastasis. *Cell*, 178 (2): 330-345.
- Yarıktaş, M., Döner, F., Doğru, H., Aynalı, G., Yönden, Z., Delibaş, N. 2003. Baş Boyun Malign Tümörlerinde Malondialdehit Düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi, 10 (4): 65-67.
- Yazgı, Z.G., Yılmaz, M. 2020. Onkoloji Hastalarının Yaşadığı Psikososyal Sorunlarla Baş Etmesinde Hemşirenin Rolü. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 4 (1): 60-70.
- Yılmaz, S., Ozan, S.T. 2003. Meme Kanseri Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. *Türk J Biochem*, 28 (4): 252-256.
- Zhang, Y. X., Zhang, Y. G. 1993. Clinical Investigation of Erythrocyte Function in Patients with Lung Cancer. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.*, 16 (5): 278-280.