

Kanserli ve Sağlıklı Larenks Dokularında ICP-MS Yöntemi ile Eser Elementler AnaliziÖmer Faruk KOÇAK¹, Mevlüt ALBAYRAK², Fatma Betül ÖZGERİŞ³

ÖZET: Eser elementler vücudun düzgün çalışması için gereklidir. Biyolojik element konsantrasyonundaki değişiklikler çok sayıda patolojik durumda gözlenmiştir. Bu çalışmanın amacı, larenks dokularındaki eser element konsantrasyonunun değerlendirilmesidir. Çalışmada larenks kanseri teşhisi konmuş 9 hastanın kanserli larenks dokuları ve aynı hastaların sağlıklı larenks dokuları kullanılmıştır. Larenks dokularındaki Al, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ag, Cd, Sb ve Pb seviyeleri, Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldı ve larenks kanserli dokularda Cu seviyesinin sağlıklı dokulara göre anlamlı derecede ($p < 0.05$) yüksek olduğu ve Al, Cr, Mn, As, Se, Ag ve Sb elementlerinin derişiminin ise sağlıklı dokulara göre anlamlı derecede düşük olduğu bulundu. Bu sonuçlar, larenks kanseri etyolojisinde eser elementlerin önemli rolleri olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Larenks kanseri, eser elementler, indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi, FFPE doku

Trace Elements Analysis in Cancer and Healthy Larynx Tissues by ICP-MS Method

ABSTRACT: Trace elements are necessary for the body to function properly. Changes in biological element concentration have been observed in a number of pathological conditions. The aim of this study is to evaluate the trace element concentration in the larynx tissues. Cancer laryngeal tissues and healthy larynx tissues of the same patients were used in the study. Al, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ag, Cd, Sb and Pb levels in the larynx tissues were determined using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). The results were compared with the control group and it was found that Cu level in tissues with laryngeal cancer was significantly higher ($p < 0.05$) compared to healthy tissues, and the concentration of Al, Cr, Mn, As, Se, Ag, and Sb elements was significantly lower than healthy tissues. These results suggest that trace elements play an important role in the etiology of laryngeal cancer.

Key words: Laryngeal cancer, trace elements, inductively coupled plasma - mass spectrometer, FFPE tissue

¹ Ömer Faruk KOÇAK (Orcid ID: 0000-0001-5873-0944), Atatürk Üniversitesi, Erzurum Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojisi Bölümü, Erzurum, Türkiye

² Mevlüt ALBAYRAK (Orcid ID: 0000-0001-8673-6577), Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Erzurum, Türkiye

³ Fatma Betül ÖZGERİŞ (Orcid ID: 0000-0002-4568-5702), Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Erzurum, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ömer Faruk KOÇAK, e-mail: omer.kocak@atauni.edu.tr

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale yer alan araştırma için "Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu"nun 29.03.2018 tarih ve B.30.2.ATA.0.01.00/177 sayılı yazısı, 29.03.2018 tarih, Toplantı Sayısı:3 ve Karar No:26 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

GİRİŞ

Larenks kanseri tüm kanserlerin %2'sini meydana getirmekle birlikte baş-boyun bölgesi kanserleri içerisinde en sık görülenidir (Çaloğlu ve ark., 2005). Larenks kanseri insidansı, genetik faktörler de dahil olmak üzere hem ekzojen hem de endojen faktörlerden etkilenir. Son zamanlarda, çalışmalar bazı eser elementlerin malign tümör insidansı ve ilerlemesi sürecinde önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir (Kaba ve ark., 2014; Shang ve ark., 2014; Kohzadi ve ark., 2017; Samavarchi ve ark., 2018). Toksik metaller, metabolizma, detoksifikasyon ve onarım süreçlerinde yer alan hücresel bileşenler ve enzimler üzerinde olumsuz bir etkiye sahipken, temel elementlerin katkısı mineral eksikliği ve onunla ilişkili problemler açısından yorumlanabilir. Mikro ve makronutrientlerin uygun konsantrasyonları ve oranları şüphesiz homeostazi etkileyen en önemli faktörlerdir. Bu dinamik denge durumu, insan vücudunun düzgün çalışmasını sağlamak için çok önemlidir (Bleackley ve MacGillivray, 2011).

Esansiyel elementler, yaşamı sürdürmek için gerekli olan metabolik ve fonksiyonel gıda bileşenleri olarak tanımlanır. Hem eser element eksikliği hem de fazlalığı fizyolojik bozukluklara yol açar ve yüksek metal konsantrasyonu toksik etkiler gösterebilir (Bánfalvi, 2011). Örneğin Çinko (Zn), bakır (Cu) ve magnezyum (Mg) iyonları, doğal bir oksidan bariyer görevi gören antioksidan enzimlerin bileşenleridir ve eksikliği durumunda ortaya çıkan oksidatif stres, tümör oluşumunu teşvik eder (Golasik ve ark., 2015). Bununla birlikte, fazla Zn ve Cu, reaktif oksijen türleri (ROS) ve DNA dahil farklı hücre bileşenlerine zarar veren oksidatif stres üreterek oksidan özellikler göstermiştir (Kohzadi ve ark., 2017). Pb, Hg ve Cd gibi diğer bazı eser elementler enzimleri doğrudan inhibe edebilir ve enzimlerin normal işlevlerini bozabilirler (Reddy ve ark., 2003). Bu gibi nedenlerle, insan popülasyonunda temel metallerin biyolojik olarak izlenmesi önemli bir konu haline gelmiştir. Kanser durumunda, metal konsantrasyonunun değerlendirilmesi haklı ve gereklidir.

Ne yazık ki, kan analizi tüm vücuttaki gerçek konsantrasyonu yansıtmayabilir, çünkü organizma metallerin yönetimindeki bozuklukları maskeleyen homeostatik mekanizmalar sağlar. Şu anda ilgi, insan vücudundaki değişikliklerin değerlendirilmesine izin verecek en uygun biyolojik materyalin seçimine odaklanmaktadır (Golasik ve ark., 2015). Bu durum kanser ve eser element ilişkisi üzerine yapılan çalışmalarda biyolojik materyal olarak sıklıkla kullanılan dokuları akla getirmektedir. Ancak ameliyat sonrası çıkarılan yaş dokular doku bazlı kuru veya ıslak ağırlıktan kaynaklanan hesaplama hataları ve kanserli alanı tam olarak temsil eden numunenin alınmasındaki zorluklar gibi sebeplerle hatalı sonuçlara neden olabilmektedir (Yaman, 2006). Bu nedenlerle, çalışmamızda FFPE (*formalin fixed paraffin embedded*) dokuları tercih ettik. Patoloji bölümleri ve araştırma enstitüleri FFPE doku bloklarını histopatolojik incelemeler için rutin olarak kullanırlar. FFPE dokular kuru şekilde tartılabildiği ve kanserli alan mikroskop altında incelendiği için hem hesaplamalarda hem de kanserli alanı temsil eden kısımda hatayı en aza indirmektedir. FFPE dokularının ayrıca çalışmalarda kullanılabilecek geniş bir arşiv olanağı sağlar (Yaman, 2018).

Bu çalışmada larenks kanseri hastalarının kanserli dokularını ve aynı hastaların sağlıklı larenks dokularının ICP-MS yöntemi ile bazı eser elementlerin (Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Ag, Cd ve Pb) analizini yaparak karşılaştırmayı amaçladık. Eser element düzeyinin diyet ve çevresel faktörlerden ötürü farklılık gösterebildiğinden ötürü kontrol grubu olarak aynı hastaların kullanılmasının çalışmanın doğruluğunu olumlu etkileyeceğini düşünmekteyiz.

MATERYAL VE METOT

Kimyasallar

Kullanılan tüm kimyasallar suprapur olarak tercih edilmiştir. Etanol (saflık>% 99) ve Ksilen (saflık>% 99) Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO) temin edildi. 26 element içeren çoklu standart (% 5

HNO₃ içinde 100 ml), 100 mL İç Standart (% 10 HNO₃ içinde 100 mL), Tunc Çözeltisi (% 2 HNO₃ içinde 500 ml), Nitrik asit (saflık>% 65) ve hidrojen peroksit (saflık>% 31) Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alınmış ve daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır.

FFPE Dokular

Çalışmamızda kullanılan FFPE doku örnekleri Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'den alınan etik kurul onayı alındıktan sonra Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan FFPE' li parafin bloklar 9 hastanın histopatolojik değerlendirmeler sonucunda tanısı konmuş larenks kanserli ve sağlıklı doku örneklerine aittir. Sağlıklı doku bölgeleri aynı hastanın larenks kanseri doku örneklerinden izole edildi ve kontrol olarak kullanıldı. Formalinle sabitlenmiş ve parafine gömülmüş doku örnekleri daha önce tarif edilen protokol uygulamak üzere hazırlanmıştır (Canene Adams, 2013). FFPE doku blokları, 10 µm kalınlığında kesitler elde edilmek üzere mikrotom cihazı ile kesildi ve deparafinizasyon işlemi yapılmak üzere 2 mL'lik eppendorf tüplerine konuldu.

FFPE Dokuların Deparafinizasyonu

Her numune iki parçaya bölündü ve deparafinizasyon işlemi verimli bir şekilde yapmak için 2 mL numune tüplerine aktarıldı. FFPE doku örnekleri önce bir fırında 60°C'de 60 dakika inkübe edildi. FFPE örnekleri daha sonra 5 dakika boyunca iki kez 1 mL ksilen ile yıkandı. Numuneler bir SpeedVac içinde kurutuldu. Doku örneklerinin rehidrasyonu için, numuneler daha sonra 5 dakika boyunca, %90, %80 ve %0 (h/h) etanol ile yıkandı. Her yıkama aşamasından sonra etanol fazı uzaklaştırıldı ve doku örnekleri bir SpeedVac içinde kurutuldu.

ICP-MS Analizi

Analiz edilecek elementlerin (Al, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ag, Cd, Sb ve Pb) standart çözeltileri, artan konsantrasyonlarda %2 nitrik asit çözeltisi kullanılarak hazırlandı. Kalibrasyon eğrileri çizildi ve analiz sırasında kalibrasyon eğrisinde meydana gelen sapmaları düzeltmek için İndiyum, Skandiyum, Germanium ve Bizmut iç standart olarak kullanıldı. Analiz için Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS, Agilent 7700) kullanılmıştır. Dokular tartılarak vida kapaklı(15 ml) tüplere konuldu. Üzerlerine 400µL nitrik asit ve 100µL hidrojen peroksit çözeltileri ilave edildi. 120 dakika mikro dalga cihazında (Ethos Easy, Milestone) 100 derecede yakıldı. Numunelerin üzerine 9.5 ml deiyonize su ilave edildi vortexlendi ve analize hazır duruma getirildi. ICP-MS sistemi 1550 w radyo frekans gücünde çalıştırıldı ve 4.3 mL/dak He akış hızı, 15 L/dak argon (Ar) plazma gaz akış hızı; ve sırasıyla 1 L/dak ve 0.99 L/dak Ar yardımcı ve taşıyıcı gaz akış hızı olarak yöntem şartları belirlendi ve analizler yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada istatistiksel analiz için IBM SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. Kanser ve sağlıklı dokulardaki eser element konsantrasyonlarını karşılaştırmak için bağımsız örnekler t-testi kullanılmıştır. p <0.05 anlamlı, p < 0.001 ise çok anlamlı kabul edildi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Analiz edilen tüm eser elementlerin konsantrasyonları Çizelge 1' de özetlenmiştir. Çizelge 1 incelediğinde Al, Cr, Mn, As, Se, Ag ve Sb elementlerinin sağlıklı dokularda kanserli dokulara oranla istatistiksel olarak anlamlı (p <0.05) şekilde yüksek olduğu ve özellikle Al'nin çok anlamlı (p < 0.001) olarak kanserli dokularda düştüğü gözlenmiştir. Cu elementi ise sağlıklı dokularda 17.41 ppm derişime

sahipken kanserli dokularda 41.18 ppm seviyesine yükselerek anlamlı derecede ($p < 0.05$) farklılık göstermiştir.

Kanserli dokularda Zn ve Cd elementlerine ait eser element konsantrasyonları sağlıklı dokulara göre daha yüksek olmasına rağmen bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlılık ifade etmediği görülmüştür. Co, Ni, Se, Ag ve Pb elementlerinin ise sağlıklı dokulardaki derişimleri kanserli dokulardakine göre istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen daha yüksektir.

Çizelge 1. Tümörlü ve tümörsüz lareks dokularında eser element düzeyleri ve istatistiksel sonuçlar

| | Grup | N | Ortalama mg kg ⁻¹ | Standart sapma | Ortalama Hata | P değeri |
|----|----------|---|------------------------------|----------------|---------------|--------------|
| Al | Tümörsüz | 9 | 15.56 | 2.85 | 0.95 | 0.000 |
| | Tümörlü | 9 | 6.88 | 2.71 | 0.90 | |
| Cr | Tümörsüz | 9 | 2.59 | 1.16 | 0.39 | 0.006 |
| | Tümörlü | 9 | 1.29 | 0.43 | 0.14 | |
| Mn | Tümörsüz | 9 | 1.86 | 0.97 | 0.32 | 0.021 |
| | Tümörlü | 9 | 0.96 | 0.40 | 0.13 | |
| Co | Tümörsüz | 9 | 0.16 | 0.32 | 0.11 | 0.24 |
| | Tümörlü | 9 | 0.03 | 0.01 | 0.00 | |
| Ni | Tümörsüz | 9 | 0.77 | 0.24 | 0.08 | 0.085 |
| | Tümörlü | 9 | 0.44 | 0.48 | 0.16 | |
| Cu | Tümörsüz | 9 | 17.41 | 5.90 | 1.97 | 0.003 |
| | Tümörlü | 9 | 41.18 | 19.07 | 6.36 | |
| Zn | Tümörsüz | 9 | 40.21 | 17.06 | 5.69 | 0.129 |
| | Tümörlü | 9 | 50.71 | 9.78 | 3.26 | |
| As | Tümörsüz | 9 | 0.56 | 0.39 | 0.13 | 0.006 |
| | Tümörlü | 9 | 0.12 | 0.13 | 0.04 | |
| Se | Tümörsüz | 9 | 1.38 | 1.08 | 0.36 | 0.074 |
| | Tümörlü | 9 | 0.61 | 0.52 | 0.17 | |
| Ag | Tümörsüz | 9 | 0.16 | 0.29 | 0.10 | 0.19 |
| | Tümörlü | 9 | 0.03 | 0.02 | 0.01 | |
| Cd | Tümörsüz | 9 | 0.22 | 0.14 | 0.05 | 0.401 |
| | Tümörlü | 9 | 0.33 | 0.35 | 0.12 | |
| Sb | Tümörsüz | 9 | 29.81 | 19.06 | 6.35 | 0.028 |
| | Tümörlü | 9 | 13.96 | 5.14 | 1.71 | |
| Pb | Tümörsüz | 9 | 1.44 | 0.77 | 0.26 | 0.958 |
| | Tümörlü | 9 | 1.42 | 0.90 | 0.30 | |

Canlı organizmalarda gerekli elementlerin uygun düzeyde son derece önemli olduğu, eksikliklerinin karsinogenez ile ilişkili olabileceği, birçok hastalığın ve patolojik durumun tanısında metallere belirlenmesinin tavsiye edilebilirliği ve etkinliği son yıllarda yapılan birçok araştırmada doğrulanmıştır (Golasik ve ark., 2015).

Çalışmamızda lareks kanserli hastaların FFPE dokularında Al, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ag, Cd, Sb ve Pb konsantrasyonlarını inceledik. Sonuçlar, yüksek standart sapma ile kanıtlandığı gibi, çok çeşitli metal dağılımları göstermiştir. Bunun nedeni, biyolojik malzemedeki elementlerin konsantrasyonunun yaş, coğrafi bölge, beslenme ve içme suyundaki elementler gibi birkaç faktöre bağlı olmasıdır (Rebacz ve ark., 2010; Mikulewicz ve ark., 2013).

Bakır midede az duedonumda fazla emilir. Emilen bakır albümin ve histidinle kompleks oluşturarak karaciğere taşınır. Karaciğere taşınan Cu; plazmadaki Cu'nun %95'ini oluşturan seruloplazmin şeklinde salınır. Bakırın vücuda fazla alınması hücrelerde ROT oluşumuna sebep olan oksidan olduğu bilinmektedir. Bakırın indüklediği oksidatif hasar genellikle yüksek derecede reaktif olan OH radikalinin oluşumuyla gerçekleşir ve bu oluşan radikalde dokulara hasar veren lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Son yirmi yılda yapılan çalışmalarla tümörün hem etyolojisinde hemde büyümesinde bakırın rolü olduğu gösterilmiştir (Goodman ve ark., 2004; Brewer, 2005). Bu

durum çalışmamızda gözlediğimiz Cu konsantrasyonunun kanserli dokularda ki yükselmesini açıklamaktadır.

Se ile kanser arasında bazı ilişkiler saptanmış ve yüksek dozda hematolojik tümörlerin tedavisinde etkili olduğu ileri sürülmüştür. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda yüksek dozda, laboratuvar hayvanlarında siroz ve hepatoselüler tümörlere yol açtığı bildirilmiştir. Kanser ve Se arasında bir ilişki olduğu yolundaki görüş, Se'nin makromolekülleri oksidasyon stresinden koruduğu ve glutatyonun bir bilşeni olduğu anlaşıldığında anlamlı bulunmuştur (Schwartz, 1975). Larenks dokuları açısından Se miktarının sağlıklı dokularda kanserli dokulara oranla daha yüksek çıkması bu bilgilerle açıklanabilir.

Kanserli ve sağlıklı dokuların element düzeylerinin karşılaştırdığımız bu çalışmada hasta ve kontrol grubu olarak kullandığımız dokuların aynı kişilere ait olması, eser element düzeylerinin kanserle ilişkisi üzerine yapılan araştırmaların güvenilirliğini azaltan yaş, coğrafi bölge, beslenme ve içme suyundaki elementler gibi perdeleyici etkenlerin dışarda bırakılmasını sağlamıştır. Çalışmamızın diğer bir avantajı ise yaş doku yerine FFPE dokular kullanılmasıdır. Çünkü ameliyat esnasında çıkarılan taze dokularla çalışmalar da numunenin tam olarak kanserli veya sağlıklı alanı temsil etmeyebilmesi ve dokuların tartımında taze veya kuru ağırlık farklılık göstereceğinden çelişkili sonuçlar elde edilebilmektedir (Yaman, 2006).

Literatür incelendiğinde kanserli ve sağlıklı dokularda yapılan ve bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte birkaç eser element çalışması mevcuttur (Rostkowska Nadolska ve Pośpiech, 1999; Niedzielska ve ark., 2000; Khelifi ve ark., 2013; Dobrowolski ve ark., 2014). Ancak yaptığımız araştırmalarda FFPE larenks dokularında yapılan herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Örneğin Rostkowska ve arkadaşları (Rostkowska-Nadolska ve Pośpiech, 1999) larenks tümöründe arsenik, nikel, bakır, kadmiyum, kurşun ve kobalt konsantrasyonunun kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğunu ve selenyum, çinko ve demir konsantrasyonunun daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Niedzielska ve ekibi (Niedzielska ve ark., 2000) ise larinksin neoplazmatik dokularındaki magnezyum, çinko ve bakır seviyeleri, atomik absorpsiyon spektrofotometrisi kullanılarak belirlenmiş ve çinko ve bakır düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu belirtmiştir. Bir başka çalışmada ise eşleştirilmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ve atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) teknikleri ile larenks dokuları analiz edilmiş, sağlıklı doku kanserli olanla karşılaştırılmış ve Zn, Cd, Cu, Al, Ni ve Co içeriğinin kanserli dokularda daha düşük olduğu gösterilmiştir (Dobrowolski ve ark., 2014). Rim ve arkadaşları (Khelifi ve ark., 2013) Atomik Absorpsiyon Spektrometresi kullanılarak 101 baş ve boyun kanseri hastasının tümör dokularındaki As, Cd, Cr ve Ni konsantrasyonlarının sağlıklı dokulara göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bizim çalışmamızda ise Cu, Zn ve Cd seviyesi kanserli dokularda yüksek iken Al, Cr, Mn, As, Se, Ag, Pb ve Sb elementlerinin derişimi düşüktür. Fazla Zn ve Cu, reaktif oksijen türleri (ROS) ve DNA dahil farklı hücre bileşenlerine zarar veren oksidatif stres üreterek oksidan özellikler gösterdiği bilinen bir gerçektir (Kohzadi ve ark., 2017). Bu durum çalışmamızı ispatlar niteliktedir.

Görüldüğü üzere yapılan çalışmalar birbirlerini destekleyen sonuçlarla beraber çelişkilerde içermektedir. Bunun nedeni olarak kullanılan yöntem ve biyomateryalin farklılığı olduğunu düşünmekteyiz. Kanserli olmayan dokulara kıyasla kanserli dokuların eser element konsantrasyonlarındaki artış veya azalmalar üzerine literatürdeki farklılıklar; doku bazlı kuru veya ıslak ağırlık, farklı hassasiyetler ve doğruluğu etkileyen analiz yöntemlerinin temeli ve kanserli veya kanserli olmayan alanı temsil eden numunenin alınmasındaki zorluklar gibi birkaç neden olabileceği belirtilmiştir (Yaman, 2006). Bu olumsuzlukları azaltabilmek ve geçmişe dönük birçok hastanın doku analizini yapabilmek için FFPE dokular kullandık. Doku bazlı kuru veya ıslak ağırlık ve kanserli veya kanserli olmayan alanı temsil eden numunenin alınmasındaki zorlukların aşılmasında FFPE dokuların

kullanılması etkili olmuştur. Ayrıca ICP-MS yöntemi kullanmamız, çalışmamızı diğer çalışmalardan ayıran önemli bir unsurdur. Çünkü ICP-MS ile sağlanan tayin limitleri diğer yöntemlerle sağlanamamaktadır ve izotop analizi yapılamamaktadır. ICP-MS cihazı ile çok geniş bir aralıkta (ppt-ppm aralığında) doğrusallık sağlanarak çalışılabilmektedir. Analiz süresi bakımından da diğer yöntemlere göre önemli derecede üstünlük sağlanabilmektedir (Caner, 2014).

SONUÇ

Çalışmamızda larenks kanserli dokularda Cu seviyesinin sağlıklı dokulara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve Al, Cr, Mn, As, Se, Ag, ve Sb elementlerinin derişiminin ise sağlıklı dokulara göre anlamlı derecede düşük olduğunu saptadık. Bu veriler doğrultusunda larenks kanseri etiyojisinde eser elementlerin önemli rolleri olduğu düşünülmektedir. Ancak bu rollerin aydınlatılmasında beslenme, sigara kullanımı ve coğrafi bölge gibi eser elementlere maruziyeti etkileyen unsurların daha net bir şekilde ortaya koyulmasının gerektiği görülmektedir. Bu sonuçlar kanser hastalarının tanı ve tedavisi ile ilgili çalışmalara öncülük edecektir. Çalışmamızda, FFPE dokuları kullanarak ve ICP-MS yöntemini tercih ederek, eser elementler ve kanser arasındaki ilişkinin daha açık bir şekilde ortaya çıkacağını ve larenks kanserinde eser element analizi ile ilgili çalışmaların çelişkilerinin azaltılacağını düşünüyoruz. Ayrıca bu çalışmanın kanserli ve sağlıklı dokuların eser element düzeyleri üzerindeki araştırmalara da ışık tutacağına inanıyoruz.

TEŞEKKÜR

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na FFPE doku örneklerini sağladığı için içten teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

- Bánfalvi G, 2011. Cellular effects of heavy metals. Springer Science & Business Media, pp. 3-28, New York-ABD
- Bleackley MR, MacGillivray RT, 2011. Transition metal homeostasis: from yeast to human disease. *Biometals*, 24(5): 785-809.
- Brewer GJ, 2005. Anticopper therapy against cancer and diseases of inflammation and fibrosis. *Drug discovery today*, 10(16): 1103-1109.
- Canene-Adams K, 2013. Preparation of formalin-fixed paraffin-embedded tissue for immunohistochemistry. *Methods in enzymology*, 533: 225-233.
- Caner M, 2014. Icp-ms İle Demir Analizlerindeki Girişim Etkilerinin Gıda, Cam Ve Su Örneklerinde İncelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Dobrowolski R, Klatka J, Brodnjak-Voncina D, Trojanowska A, Myśliwiec D, Ostrowski J, Remer M, 2014. Chemometric methods for studying the relationships between trace elements in laryngeal cancer and healthy tissues. *Biological trace element research*, 159(1-3): 107-114.
- Goodman V, Brewer, G, Merajver S, 2004. Copper deficiency as an anti-cancer strategy. *Endocrine-related cancer*, 11(2): 255-263.
- Golasik, M., Przybyłowicz, A., Woźniak, A., Herman, M., Gawęcki, W., Golusiński, W., Florek, E. (2015). Essential metals profile of the hair and nails of patients with laryngeal cancer. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 31: 67-73.
- Kaba M, Pirincci N, Yuksel MB, Gecit I, Gunes M, Ozveren H, Eren H, Demir H, 2014. Serum levels of trace elements in patients with prostate cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(6): 2625-2629.

- Khelifi R, Olmedo P, Gil F, Hammami B, Chakroun A, Rebai A, Hamza-Chaffai A, 2013. Arsenic, cadmium, chromium and nickel in cancerous and healthy tissues from patients with head and neck cancer. *Science of the total environment*, 452: 58-67.
- Kohzadi S, Sheikhesmaili F, Rahehagh R, Parhizkar B, Ghaderi E, Loqmani H, Shahmoradi B, Mohammadi E, Maleki A, 2017. Evaluation of trace element concentration in cancerous and non-cancerous tissues of human stomach. *Chemosphere*, 184: 747-752.
- Çaloğlu M, Yürüt Çaloğlu V, Uzal C, Karagöl H, Tokatli F, Uygun K, 2005. Larenks Kanserli Olgularda Lokal Bölgesel Kontrol Sonuçlarımız ve Prognostik Faktörler: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Deneyimi. *Turkish Journal of Oncology* 20(1): 20-26
- Mikulewicz M, Chojnacka K, Gedrange T, Górecki H, 2013. Reference values of elements in human hair: a systematic review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3): 1077-1086.
- Niedzielska G, Caruk K, Pasternak K, 2000. Trace elements in neoplasm tissues of the larynx. *Otolaryngologia polska= The Polish otolaryngology*, 54: 200-202.
- Rębacz E, Baranowska-Bosiacka I, Chlubek D, 2010. The content of selected chemical elements in the hair of young men of the Bantu language group from Tanzania versus environmental and social conditioning. *Biological trace element research*, 137(3): 262-279.
- Reddy SB, Charles MJ, Raju GN, Vijayan V, Reddy BS, Kumar M R, Sundareswar B, 2003. Trace elemental analysis of carcinoma kidney and stomach by PIXE method. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 207(3): 345-355.
- Rostkowska-Nadolska B, Pośpiech L, 1999. The content of some trace elements in tissue of laryngeal squamous cell carcinoma. *Otolaryngologia polska= The Polish otolaryngology*, 53(3): 267-270.
- Samavarchi ST, Mahmoodzadeh HH, Yousefi T, Abolghasemi M, Qujeq D, Maniati M, Amani J, 2018. The crosstalk between trace elements with DNA damage response, repair, and oxidative stress in cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120: 1080-1105.
- Schwartz MK, 1975. Role of trace elements in cancer. *Cancer research*, 35: 3481-3487.
- Shang Z, Niu Y, Cai Q, Chen J, Tian J, Yeh S, Lai KP, Chang C, 2014. Human kallikrein 2 (KLK2) promotes prostate cancer cell growth via function as a modulator to promote the ARA70-enhanced androgen receptor transactivation. *Tumor Biology*, 35(3): 1881-1890.
- Yaman M, 2006. Comprehensive comparison of trace metal concentrations in cancerous and non-cancerous human tissues. *Current medicinal chemistry*, 13(21): 2513-2525.
- Yaman ME, 2018. İnvaziv Duktal Karsinom Tanisi Almış Meme Dokusu Örneklerine Ait N-Bağlı Glikozilasyon Yapılarının Glikomiks Yaklaşımı İle Analizi Ve Biyobelirteç Potansiyellerinin Araştırılması, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).