

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSERLİ HASTALARDA SERUM, ERİTROSİT ADA AKTİVİTESİ VE BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER İLE İNSAN VÜCUT SIVILARINDA ADA
AKTİVİTE DÜZEYLERİ VE SERUM ADA ENZİMİNİN KİNETİK ÖZELLİKLERİ**

Oya KÖYLÜOĞLU

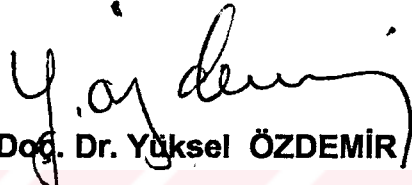
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Ocak - 1997

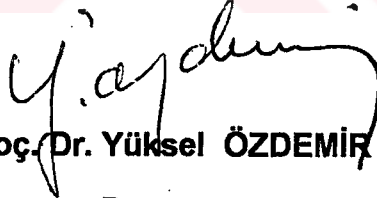
Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼n¼n Onayı

Prof. Dr. Yavuz COŐKUN
Sağlık Bilimleri Enstit¼s¼ M¼d¼r¼

Bu tez çalıŐmasının bir "Y¼ksek Lisans" derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.


Doç. Dr. Y¼ksel ¼ZDEMİR
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez, tarafımdan okunmuŐ ve her y¼n¼ ile bir "Y¼ksek Lisans" tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

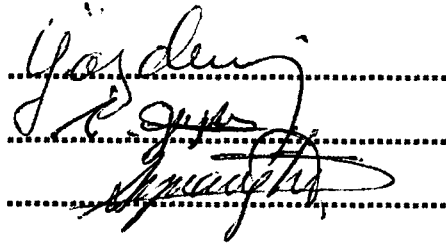

Doç. Dr. Y¼ksel ¼ZDEMİR
Danışman

Tez J¼risi:

Doç. Dr. Y¼ksel ¼ZDEMİR

Yrd. Doç. Dr. İclal MERAM

Yrd. Doç. Dr. Ő¼kr¼ AYNACIOğLU


.....
.....
.....

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Adenozin Deaminaz.....	3
2.1.1. Tanımı.....	3
2.1.2. İşlevi.....	3
2.1.3. Pürin Nükleotidlerinin Yıkımı.....	5
2.1.4. ADA İzoenzimleri.....	11
2.1.5. Adenozin Deaminazın Substratları.....	13
2.1.6. Enzim İnhibisyonu.....	16
2.2. Adenozin ve 2' - Deoksiadenozin.....	20
2.2.1. dATP Yığılmasının Metabolik Sonucu.....	23
2.3. Adenozin Deaminazın Lokalizasyonu.....	27
2.3.1. Adenozin Deaminazın Klinik Önemi.....	29
2.4. ADA Aktivite Düzeyinin Ölçülmesinde Kullanılan Yöntemler.....	33
2.5. Kanser.....	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	41

	Sayfa
3.1. Gereç.....	41
3.1.1. Örneklerin Sağlanması.....	41
3.1.2. Kullanılan Aletler.....	41
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	42
3.2. Yöntemler.....	43
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması.....	43
3.2.1.1. Hemolizat Hazırlanması.....	43
3.2.1.2. Serum ve Diğer Kullanılan Vücut	
Sıvılarının Hazırlanması.....	43
3.2.2. ADA Aktivite Düzeyi Ölçüm Yöntemi (GIUSTI)	44
3.2.2.1. İske.....	44
3.2.2.2. Ayıraçlar.....	45
3.2.2.3. İşlem.....	47
3.2.2.4. Hesap.....	49
3.2.2.4.1. Eritrosit için.....	50
3.2.2.4.2. Diğerleri.....	50
3.2.3. Substrat Olarak Adenozin Hemisülfat Yerine	
2¹ - Deoksiadenozin Kullanılması.....	50
3.2.3.1. Ayıraç.....	50
3.2.3.2. İşlem.....	51
4. BULGULAR.....	52
4.1. Dalga Boyu Taraması.....	52
4.2. Serum - Plazma ADA Aktivite Düzeyleri.....	52
4.3. Stabilite.....	53
4.4. Kontrol ve Kanserli Grup Serum ve	
Eritrosit ADA Aktivite Düzeyleri.....	53

4.5. Kontrol ve Kanserli Grup Serum Ürik Asit, Total Protein ve Albumin Düzeyleri.....	56
4.6. Kontrol ve Kanserli Grup Serum Alkalen Fosfataz, Laktat Dehidrogenaz, Alanin Aminotransferaz ve Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri.....	59
4.7. Kontrol ve Kanserli Gruplarda Serum ADA Aktivite Düzeyleri ile Diğer Biyokimyasal Parametre Düzeyleri Arasındaki İlişkiler.....	61
4.8. Serum ADA Aktivite Düzeylerinin Yaşa Bağlı Değişimi.....	62
4.9. İnsan Vücut Sıvılarında ADA Aktivite Düzeyleri.....	64
4.10. Substrat Olarak Adenozin (Ade) Yerine 2'- Deoksiadenozin (d- Ade) Kullanıldığında Elde Edilen ADA Aktivite Düzeyleri.....	65
4.11. Serum ADA Enziminin Kinetik Özellikleri.....	66
4.11.1. ADA Enziminin Adenozin için Elde Edilen Michaelis Menten Eğrisi.....	66
4.11.2. ADA Enziminin 2'- Deoksiadenozin için Elde Edilen Michaelis Menten Eğrisi.....	68
4.11.3. ADA Enziminin Adenozin için Elde Edilen Lineweaver-Burk Eğrisi.....	69
4.11.4. ADA Enziminin 2'- Deoksiadenozin için Elde Edilen Lineweaver-Burk Eğrisi.....	70
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	72
6. KAYNAKLAR.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	93

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KANSERLİ HASTALARDA SERUM, ERİTROSİT ADA AKTİVİTESİ VE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER İLE İNSAN VÜCUT SIVILARINDA ADA AKTİVİTE DÜZEYLERİ VE SERUM ADA ENZİMİNİN KİNETİK ÖZELLİKLERİ

Oya KÖYLÜOĞLU

Gaziantep Üniversitesi- Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Yüksel ÖZDEMİR

Ocak 1997 - 93 Sayfa

Bu çalışmada sağlıklı 42 kişiden (21 kadın, 21 erkek) oluşan kontrol grubu ve 20 kanserli hastada (10 kadın, 10 erkek) serum ve eritrosit ADA aktivite düzeyleriyle birlikte bazı biyokimya parametre düzeyleri de ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılmıştır. İnsan vücut sıvılarında (BOS, plevra sıvısı, periton sıvısı, eklem sıvısı, tükürük ve idrar) ADA aktivite düzeylerindeki değişim saptanmış ve serum ADA enziminin kinetik özellikleri incelenmiştir.

Kanserli hastalarda serum ADA aktivite düzeyi (23.0 ± 6.7 Ü/L), kontrollere oranla (15.0 ± 2.3 Ü/L) anlamlı bir artış (% 34) gösterirken, eritrosit ADA aktivite düzeyi (68.6 ± 23.3 nmol / saat- mgHb), kontrollere oranla (65.9 ± 17.7 nmol/ saat- mgHb) anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Kanserli grupta serum total protein düzeyi (6.9 ± 0.4 g/dL) ve serum albumin düzeyi (3.6 ± 0.6 g/dL) anlamlı bir düşme gösterirken, serum AST düzeyi (34.9 ± 14.4 Ü/L) kontrollere oranla anlamlı bir artış göstermiştir. İnsan vücut sıvılarından tükürük ve idrarda ADA aktivitesi elde edilemezken diğerlerinde farklı düzeylerde ADA aktivitesi saptanmıştır. Adenozin yerine 2'-deoksiadenozin kullanıldığında sıvıların ADA aktivite düzeylerinde düşme gözlenmiştir. Serum ADA enziminin K_m değeri adenozin için 1.6 mM bulunurken, 2'-deoksiadenozin için 1.4 mM olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak kanserli hastalarda serum ADA aktivite düzeylerinin kontrollere oranla anlamlı bir artış gösterdiği, insan vücut sıvılarında ADA aktivite düzeylerinin farklı düzeylerde olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Serum ve eritrosit ADA, kanserli hastalar, insan vücut sıvıları, adenozin, 2'-deoksiadenozin

ABSTRACT

M.S. Thesis

**THE LEVELS OF SERUM AND ERYTHROCYTE ADA ACTIVITIES AND
SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN CANCER PATIENTS, THE ADA
ACTIVITIES OF HUMAN BODY FLUIDS, AND THE KINETIC
PROPERTIES OF SERUM ADA ENZYME**

Oya KÖYLÜOĞLU

Gaziantep University-Graduate School of Health Sciences

Department of Biochemistry

Supervisor : Assoc.Prof. Yüksel ÖZDEMİR

January - 1997, 93 Pages

In this study, in addition to serum and erythrocyte ADA activity levels, some serum biochemical parameters levels of the control group consisted of 42 healthy subjects (21 F, 21 M) and of 20 cancer patients (10 F, 10 M) were determined and the results obtained were compared. The levels of ADA activity of human body fluids (Cerebrospinal fluid, pleural and peritoneal fluids, joint effusion, saliva and urine) were also measured and some kinetic properties of human serum ADA were examined.

Although the level of serum ADA activity of the cancer patients (23.0 ± 6.7 U / L) was significantly higher (34 %) than the control group

(15.1 ± 2.3 U / L), erythrocyte ADA level (68.6 ± 23.3 nmol / h- mgHb) was not significantly different from the control group value (65.7 ± 17.7 nmol / h- mgHb). Serum total protein (6.9 ± 0.4 g / dL) and albumin (3.6 ± 0.6 g / dL) levels of cancer patients were statistically lower and AST activity (34.9 ± 14.4 U/L) level was higher than the control group values. Although no ADA activity was observed in human saliva and urine, ADA activity, in varying levels, was obtained in the other body fluids. When 2'-deoxyadenosine was used instead of adenosine, the levels of ADA activities of the body fluids decreased. The K_m of serum ADA enzyme was found as 1.6 mM for adenosine and 1.4 mM for 2'-deoxyadenosine.

The results of this study indicated that serum ADA activity level of cancer patients is significantly higher than the control group value and the ADA activity level was different in each human body fluid.

Key Words : Serum and erythrocyte ADA, cancer patients, human body fluids, adenosine, 2' - deoxyadenosine

TEŞEKKÜR

Büyük bir özveride bulunarak yüksek lisans yöneticiliğini üstlenen, tez çalışmalarım süresince bilgi, görüş ve tenkitleriyle her zaman bana yol gösteren Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Doç. Dr. Yüksel ÖZDEMİR' e,

Yetişmemde emeği geçen hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Necat YILMAZ' a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. İclal MERAM' a,

Materyal alımında yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Hatice ÖZHASIRCI' ya,

Çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Gaziantep Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı personeline ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı çalışanlarına,

Grafik çiziminde yardımlarını esirgemeyen Sosyal Bilimler Enstitüsü doktora öğrencisi Sayın İsmet Şahin' e,

Tez çalışmalarım süresince ilgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan aileme, teşekkür ederim.

Kimya Mühendisi
Oya KÖYLÜOĞLU

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Adenozin deaminaz substratların kinetik özellikleri.....	13
Tablo 2.2. İnsan eritrosit adenozin deaminaz inhibitörleri.....	16
Tablo 2.3. 2'-Deoksiadenozin ile inkübe edilmiş lenfositlerde gözlenen metabolik değişiklikler.....	26
Tablo 2.4. İnsan dokularında adenozin deaminaz aktivite düzeyleri.....	28
Tablo 2.5. İnsan dokularında ve vücut sıvılarında ADA bağlayan protein aktivitesi.....	29
Tablo 2.6. Klinikte kullanılan bazı tümör işaretleyicileri.....	37
Tablo 2.7. Bazı kimyasal karsinojenler.....	39
Tablo 3.1. Giusti yöntemi ile ADA aktivite düzeyinin ölçümü....	48
Tablo 4.1. Serum ve plazma ADA aktivite düzeyleri (Ü/L).....	52
Tablo 4.2. Kanserli gruptaki hastaların kanser türleri.....	54
Tablo 4.3. Kontrol ve kanserli grup serum ve eritrosit ADA aktivite düzeyleri.....	55
Tablo 4.4. Kontrol ve kanserli grup serum ürik asit, total protein ve albumin düzeyleri.....	57
Tablo 4.5. Kontrol ve kanserli grup serum ALP, LDH, ALT ve AST düzeyleri.....	59
Tablo 4.6. Kontrol ve kanserli gruplarda bazı biyokimyasal parametrelere ait varyans analizleri.....	61
Tablo 4.7. Serum ADA aktivite düzeylerinin yaşa bağlı değişimi.....	63
Tablo 4.8. İnsan vücut sıvılarında ADA aktivite düzeyleri.....	64

**Tablo 4.9. Substrat olarak Ade ve d-Ade kullanarak bulunan
ADA aktivite düzeyleri..65**



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. ADA'nın katalizlediği tepkimeler	4
Şekil 2.2. AMP'nin farklı yıkım yolları	6
Şekil 2.3. Adenozin ve IMP'nin yıkım yolları	7
Şekil 2.4. İnozinin yıkım yolu	8
Şekil 2.5. Hipoksantin yıkım yolu	9
Şekil 2.6. Pürin nükleotidlerinin yıkımı	10
Şekil 2.7. Adenozin deaminazın substratları	14
Şekil 2.8. Adenozin analogları	17
Şekil 2.9. ADA inhibitörleri(1)	18
Şekil 2.10. ADA inhibitörleri(2)	19
Şekil 2.11. Metiyonin - Homosistein döngüsü ile adenozin eldesi....	21
Şekil 2.12. DNA sentezinin dATP ile inhibisyonu	24
Şekil 2.13. dATP yığılmasının metabolik sonucu	25
Şekil 4.1. Serum ADA enzimi Michaelis Menten Eğrisi (Adenozin için).....	67
Şekil 4.2. Serum ADA enzimi Michaelis Menten Eğrisi (2' - Deoksiadenozin için).....	68
Şekil 4.3. Serum ADA enzimi Lineweaver-Burk Eğrisi (Adenozin için).....	69
Şekil 4.4. Serum ADA enzimi Lineweaver-Burk Eğrisi (2' - Deoksiadenozin için).....	70

KISALTMALAR

- ABP** : ADA Bağlayan Protein
ADA : Adenozin Deaminaz
Ade : Adenozin
ADP : Adenozin Difosfat
AFP : Alfa fetoprotein
Alb : Albumin
ALL : Akut Lenfoblastik L6semi
ALP : Alkalem Fosfataz
ALT : Alanin Aminotransferaz
AMP : Adenozin Monofosfat
AST : Aspartat Aminotransferaz
ATP : Adenozin Trifosfat
BOS : Beyin Omurilik Sıvısı
CEA :Karsinoembriyonik Antijen
CP : Bağlayıcı Protein
CT : Kalsitonin
dAde : 2'-Deoksiadenozin
dAMP : Deoksiadenozin Monofosfat
dATP : Deoksiadenozin Trifosfat
dCf : 2'-Deoksikoformisin
dNDP : Deoksin6kleozid Difosfat
dNMP : Deoksin6kleozid Monofosfat
dNTP : Deoksin6kleozid Trifosfat
DNA : Deoksiribon6kleik Asit

EHNA :[eritro-9-(2-hidroksi-3-nonil)adenin]
FAD : Flavin Adenin Dinükleotid
F-Ado: 2-fluoroadenozin
GDH :Glutamat Dehidrogenaz
hCG : Human Koriyonik Gonadotropin
IMP : İnozin Monofosfat
K_i : İnhibitör Sabiti
K_m : Michaelis Menten Sabiti
LDH : Laktat Dehidrogenaz
MnCl₂: Mangan II Klorür
Mo : Molibden
NDP : Nükleozid Difosfat
NAD : Nikotinamid Adenin Dinükleotid
O₂⁻ : Süper Oksit Radikali
PAP : Prostatik Asit Fosfataz
RIA : Radyoimmunoassay
RNA : Ribonükleik Asit
SAH : S - Adenozil Homosistein
SAM : S - Adenozil Metiyonin
SCID : Severe Combined Immunodeficiency
ŞKİY : Şiddetli Kombine İmmun Yetmezlik
V_{max} : Maksimum Hız

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Adenozin deaminaz (E.C 3.5.4.4 ; ADA, Adenozin aminohidrolaz) pürin yıkım yolunun bir enzimi olup adenozin ve 2'-deoksiadenozinin sırasıyla inozin ve 2' - deoksiinozine hidrolitik dönüşümünü katalizlemektedir (Ungerer et al. 1992). Enzim ilk olarak 1939 yılında Conway ve Cooke tarafından tam kan ve serumda bulunmuştur (Goldberg 1965). Sistemik isimlendirmede hidrolazlar sınıfında yer alan ADA enzimi konstitutif bir enzim olup insan vücudunda yaygın olarak bulunmaktadır. İnsan dokularında en fazla dalakta en az miktarda ise tiroid dokusunda yer almakta olan ADA, hücrenin sitoplazmasında lokalize olmaktadır (Giusti 1974, Van Der Weyden ve Kelley 1976, Centelles ve Franco 1987).

Serum ADA aktivite düzeyi immün fonksiyonun değerlendirilmesinde uygun bir kriter olmaktadır. İmmüitenin arttığı durumlarda serum ADA aktivite düzeyi artmakta, immüitenin azaldığı durumlarda ise serum ADA aktivite düzeyi azalmaktadır (Valentine et al. 1977). İnsan ve hayvanlarda immüite ile kanser arasında bir ilişki bulunmaktadır. İmmün yetmezliği olan kişilerde ve immün sistemi baskılayıcı tedavi alanlarda kanser oluşumuna daha sık rastlanmaktadır (Aykan ve ark. 1987). Biyolojik sıvılarda ve tümörlerde, değişik kanser gruplarında yapılan çalışmalar sonunda yüksek ADA aktivite düzeyi saptanmakta olup kemoterapi sonunda ADA aktivite düzeyinin düştüğü gözlenmektedir (Balis 1985, Koizumi ve Ohkawara

1992, Namiot et al. 1994). Ancak cilt kanserlerinde ve beyin tümörlü hastalarda serum ADA aktivite düzeyinde kontrollere oranla anlamlı bir değişme bulunmamaktadır (Koizumi ve Ohkawara 1992, Donma ve Donma 1996).

Çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarına başvuran hastalardan alınan çeşitli vücut sıvılarında Giusti yöntemi ile ADA aktivitelerini ölçerek ADA'nın vücut sıvılarındaki düzeyini saptadık. Ayrıca kanser tanısı için bir işaretleyici olabileceğini düşündüğümüz için, Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesinde yatmakta olan bir grup kanserli hastanın plazma ve eritrosit ADA aktivite düzeylerini de ölçtük.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Adenozin Deaminaz

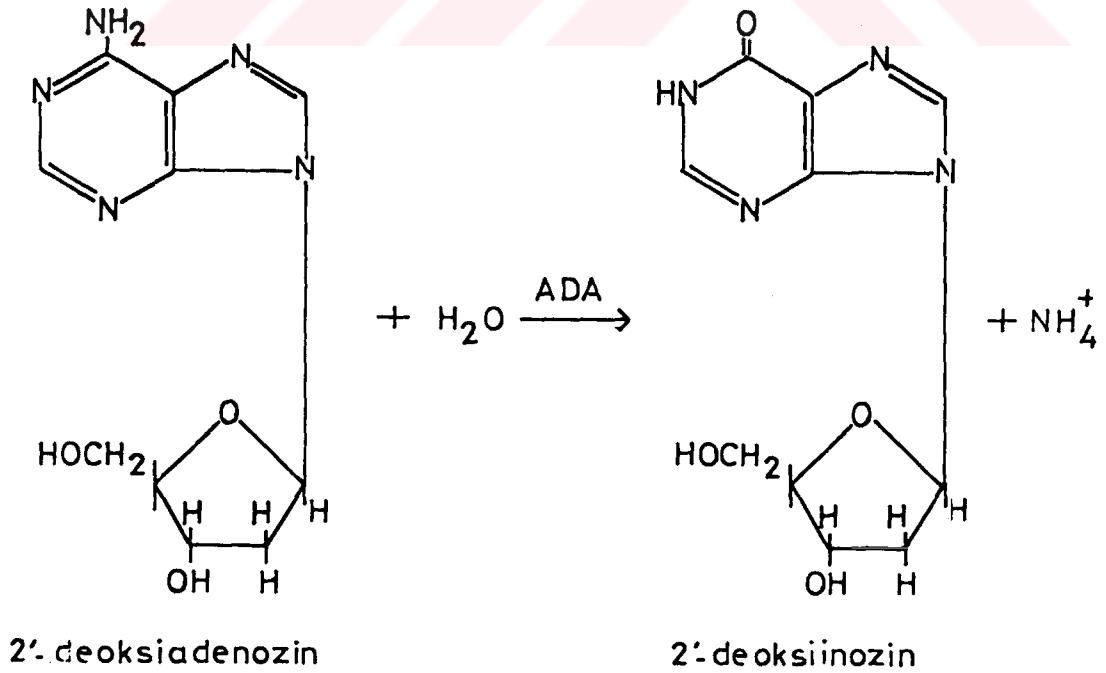
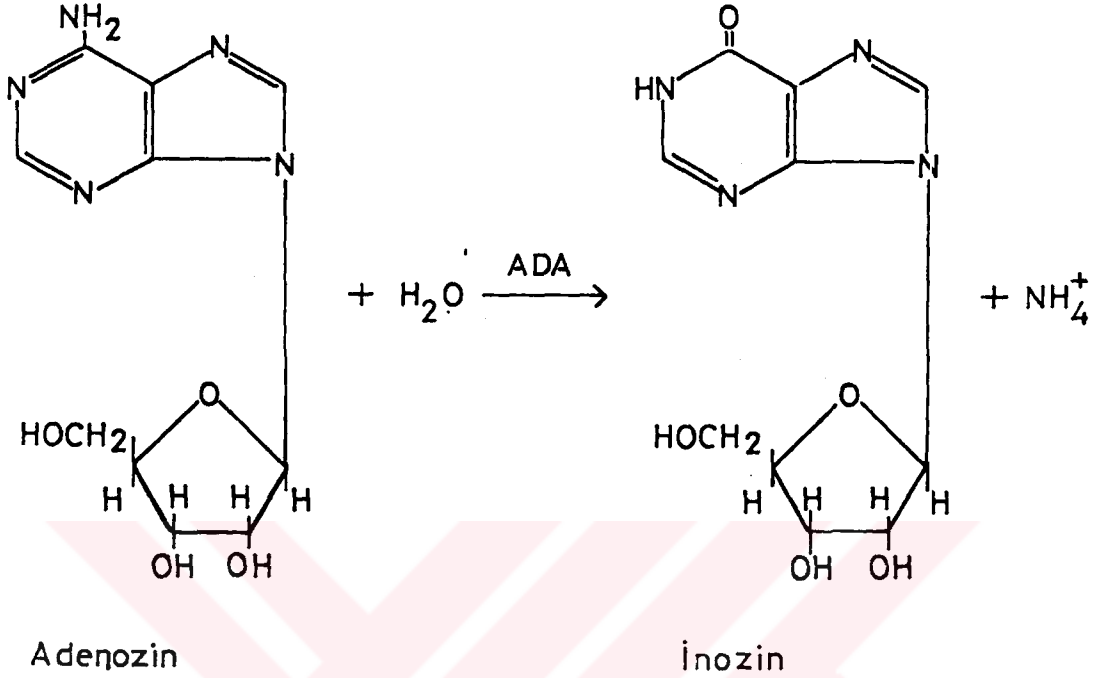
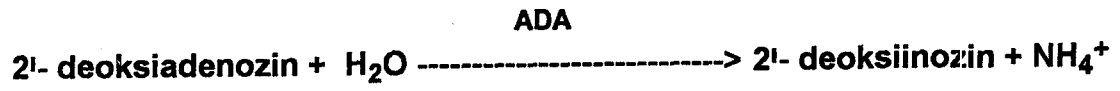
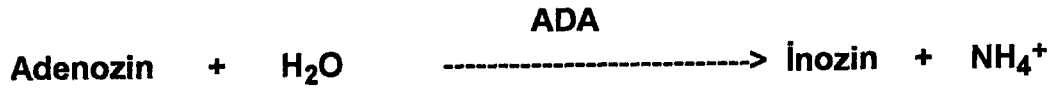
2.1.1. Tanımı

Adenozin deaminaz (ADA; EC 3.5.4.4, Adenozin aminohidrolaz) hidrolazlar sınıfında bulunan bir enzimdir. Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini katalize etmektedir. C - O, C - N, C - C ve fosforik anhidrit bağını da içeren diğer bazı bağların hidrolitik koparılmasını katalize eden enzimler hidrolazlardır. Sistemik isimlendirmede daima "HİDROLAZ" kullanılmaktadır. Pratikte ise kullanılan substratın önüne "AZ" eki getirilmektedir (Yüreğir 1988, Gözükara 1994).

Enzim 1939 yılında Conway ve Cooke tarafından tam kan ve serumda bulunmuştur (Goldberg 1965). Konstitutif bir enzim olan ADA ile substratı arasında geçici bir kovalent bağ bulunmaktadır (Solomon 1959, Agarwal et al. 1975).

2.1.2. İşlevi

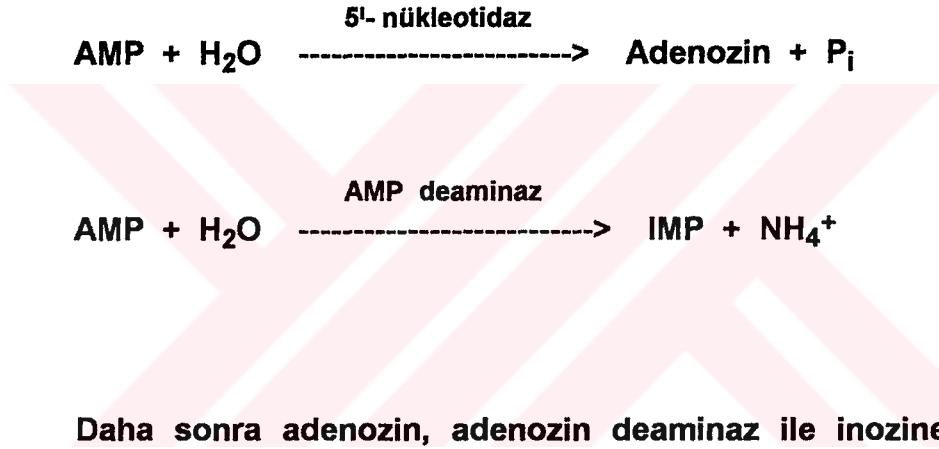
Adenozin deaminaz pürin yıkım yolunun bir enzimi olup adenozin ve 2'- deoksiadenozinin sırasıyla inozin ve 2'- deoksiinozine dönüşümünü katalizlemektedir (Şekil 2.1). Tepkime aşağıdaki gibi gerçekleşmektedir (Spencer et al. 1968, Stryer 1988, Starkey et al. 1989, Centelles ve Franco 1990, Senesi et al. 1990, Franco et al. 1990, Ungerer et al. 1992, Sehgal et al. 1992, Koizumi ve Ohkawara 1992, Khosla et al. 1992, Lehninger et al. 1993) :



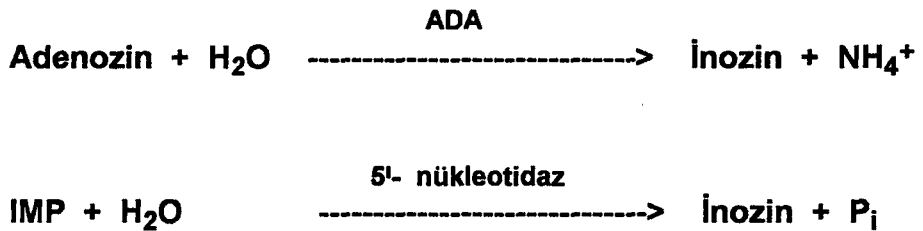
Şekil 2.1: ADA'nın katalizlediği tepkimeler.

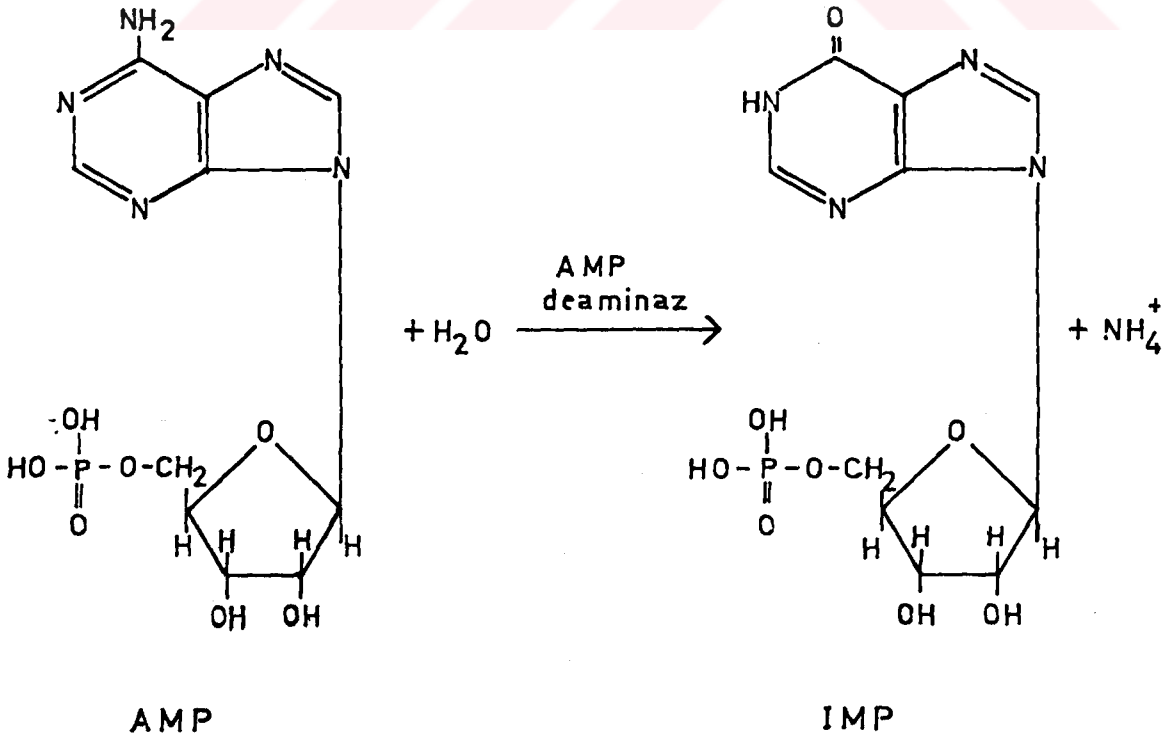
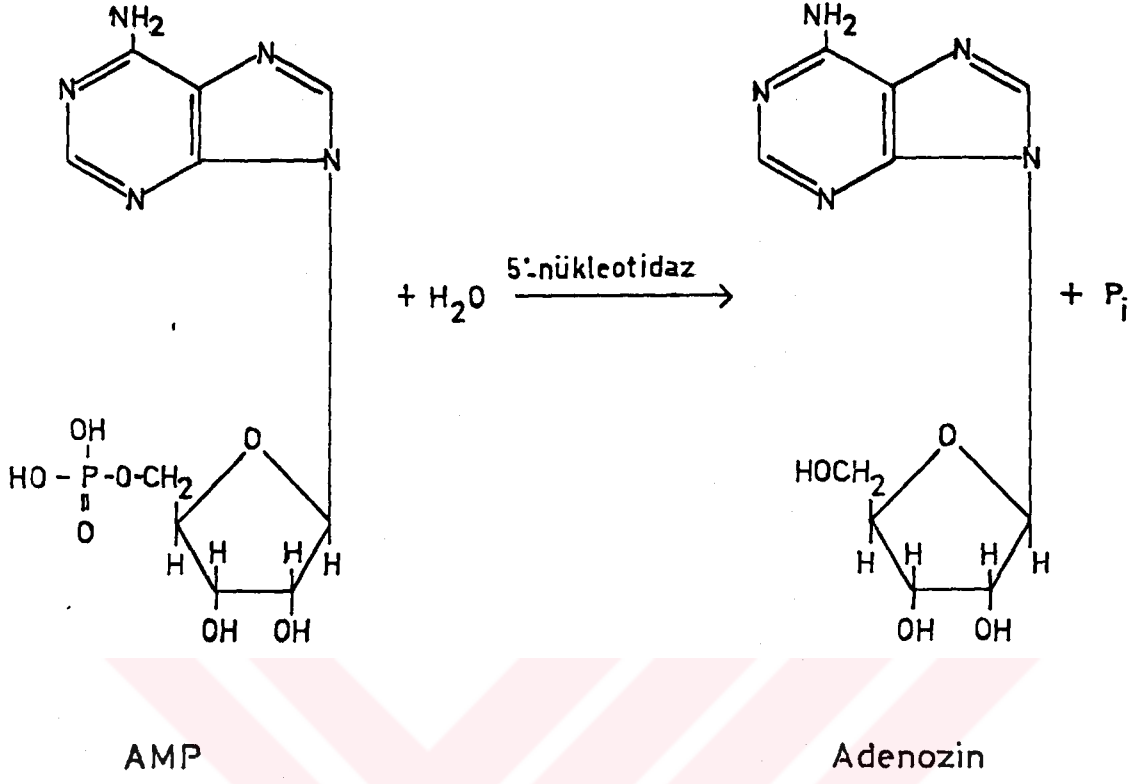
2.1.3. Pürin Nükleotidlerinin Yıkımı

Adenozin deaminaz enzimi, pürin yıkım yolunun anahtar enzimi olup adenozin ve 2'-deoksiadenozini sırasıyla inozin ve 2'-deoksiinozine dönüştürmektedir. Pürin yıkım yolunda pürin nükleotidleri, 5'-nükleotidaz enziminin etkisiyle fosfat gruplarını kaybederek adenozin monofosfata (AMP) dönüşmektedirler. Elde edilen AMP ya 5'-nükleotidaz ile adenozine ya da AMP deaminaz ile deamine edilerek inozin monofosfata (IMP) dönüşmektedir (Şekil 2.2).

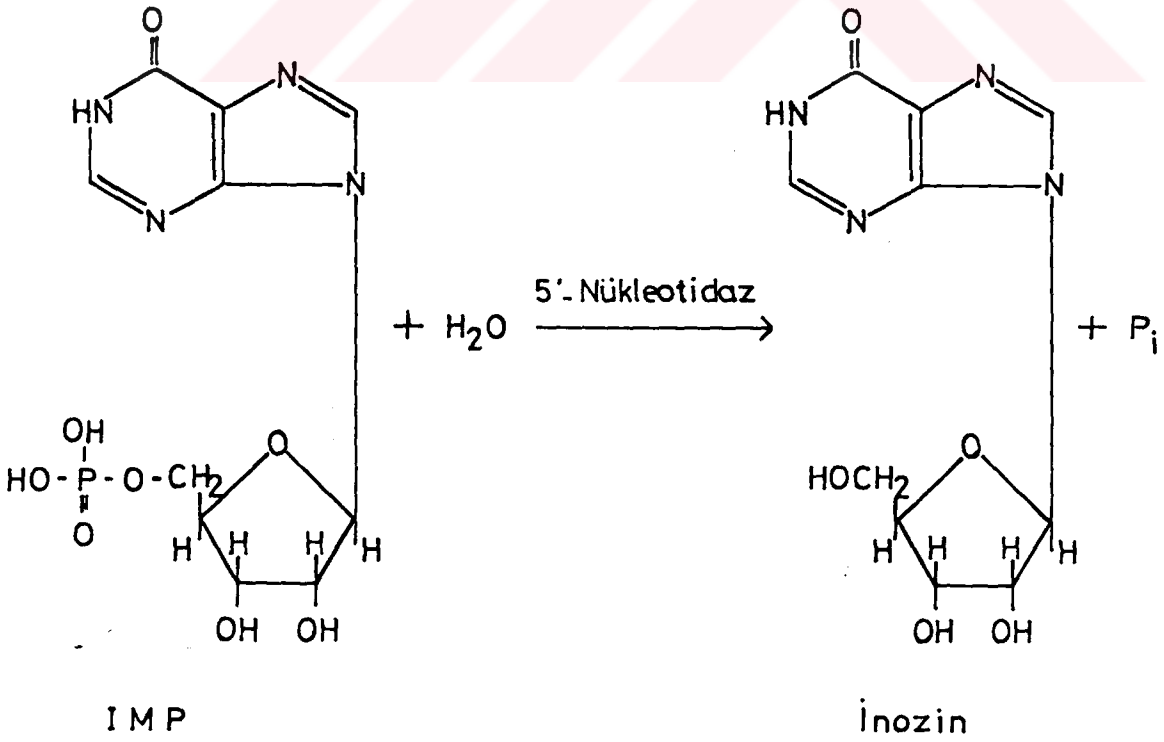
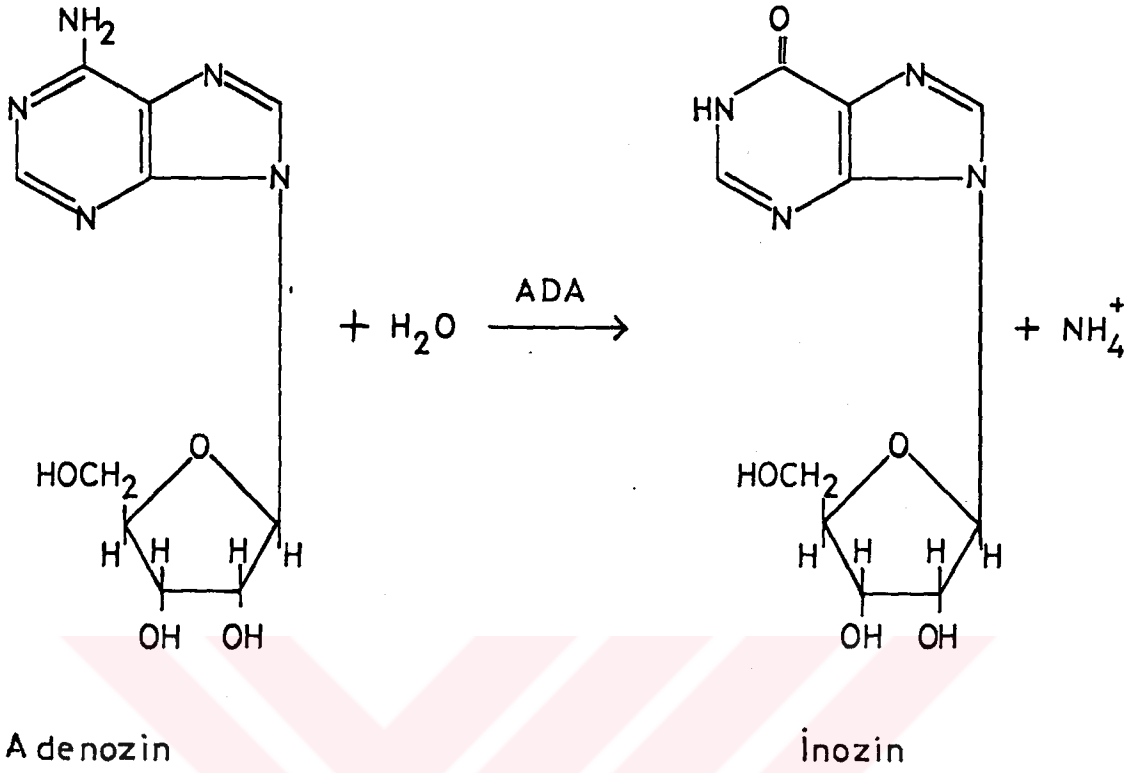


Daha sonra adenozin, adenozin deaminaz ile inozine, IMP ise 5'-nükleotidaz tarafından inozine çevrilmektedir (Şekil 2.3).



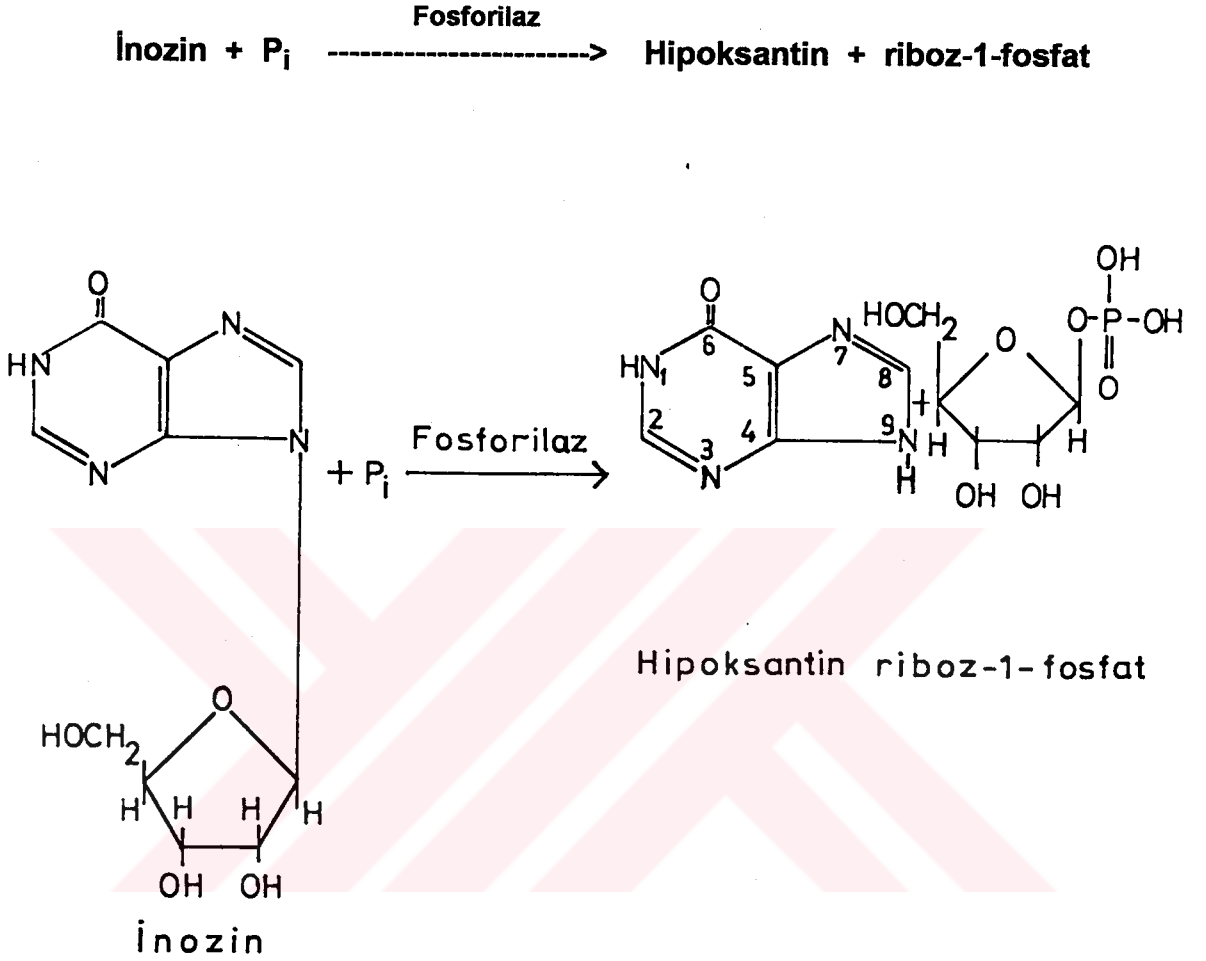


Şekil 2.2 : AMP'nin farklı yıkım yolları.



Şekil 2.3 : Adenozin ve IMP'nin yıkım yolları.

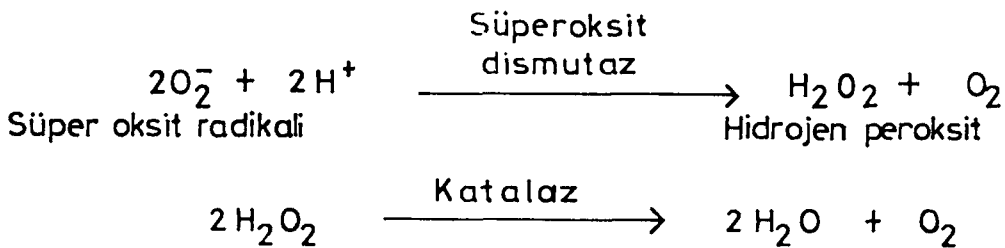
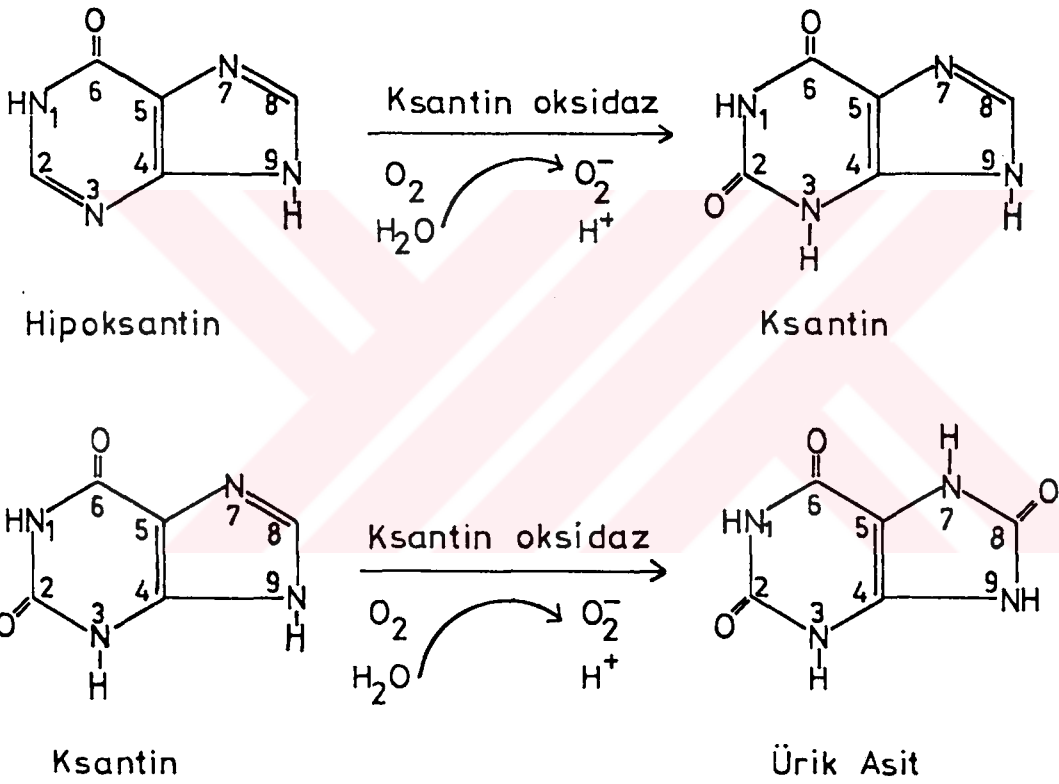
İnozin, fosforilaz ile hipoksantini oluşturmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: İnozinin yıkım yolu

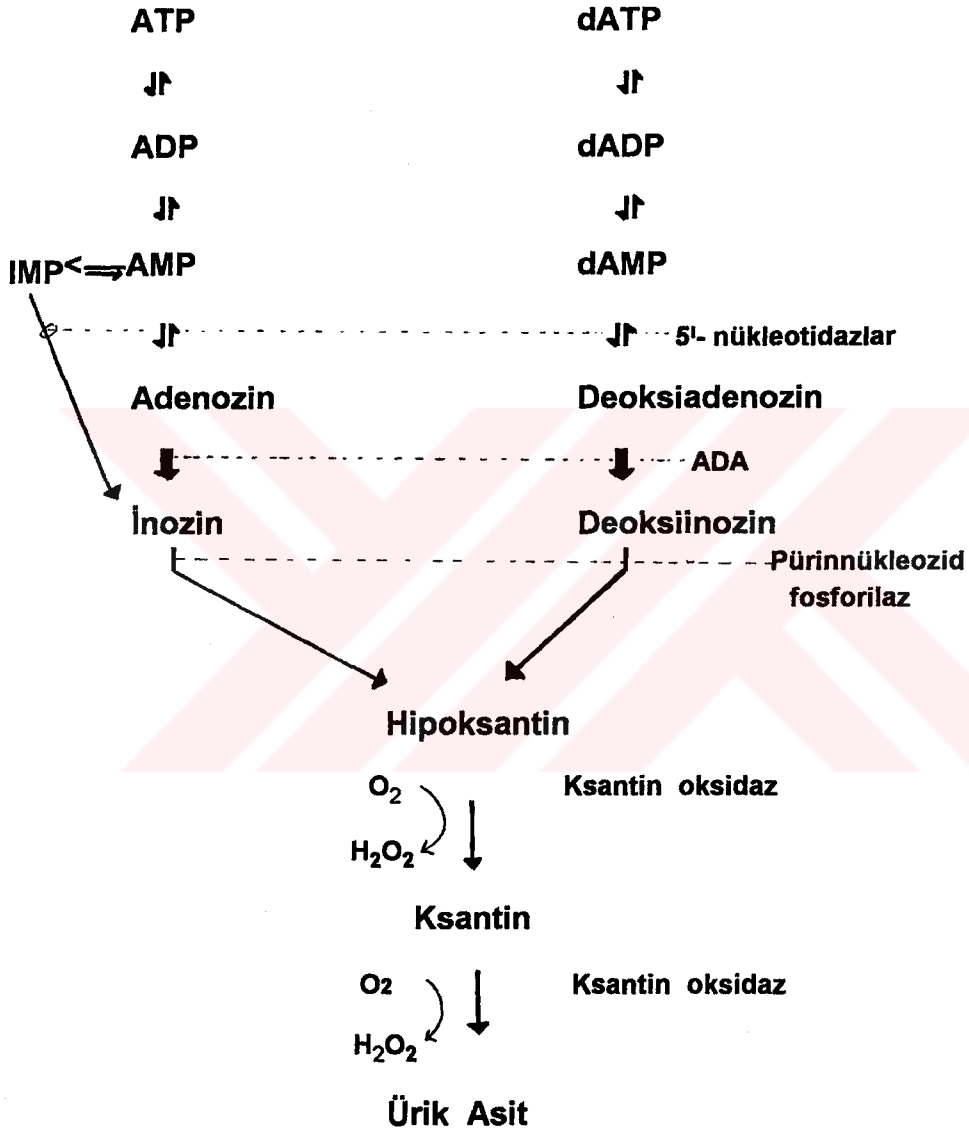
İnsanlarda pürin yıkım yolunun son aşaması, ksantin oksidaz ile gerçekleşmektedir. Ksantin oksidaz hipoksantini önce ksantine ve daha sonra ksantini ürik aside oksitlemektedir. Ksantin oksidazın yapısında molibden (Mo), non-hem Fe ve flavin - adenin dinükleotid (FAD) bulunmaktadır. Ksantin oksidaz, karaciğer ve sütte bol

miktarda bulunmaktadır. Reaksiyon için moleküler oksijen gerekli olup reaksiyon sonunda süper oksit radikali (O_2^-) oluşturulmaktadır. Süper oksit radikalının toksik etkisi süper oksit dismutaz ve katalaz enzimleri tarafından ortadan kaldırılmaktadır (Şekil 2.5) (Ottaway ve Apps 1984, Fairbanks ve Klee 1986, Mathews ve Van Holde 1990, Lehninger et al. 1993, Onat 1994).



Şekil 2.5 : Hipoksantin yıkım yolu.

Pürin yıkım yolu şematik olarak şu şekilde gösterilmektedir
(Ottaway ve Apps, 1984) :



Şekil 2.6. Pürin nükleotidlerinin yıkımı.

2.1.4. ADA İzoenzimleri

Adenozin deaminaz izoenzimleri üzerine bugüne kadar yapılan çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Sim ve Maguire (1971), Schrader ve Stacy (1977), adenozin deaminaz enziminin insan dokusunda küçük ve büyük olmak üzere iki formu olduğunu bulmuşlardır. Schrader ve Stacy (1977), enzimin küçük formunun büyük forma dönüşmesinin konversiyon faktörü veya dönüşüm faktörü adı verilen ADA bağlayıcı bir proteinle gerçekleştiğini göstermişlerdir.

Starkey ve ark.ları (1989), Franko ve ark.ları (1990), enzimin insan dokusunda A ve C olmak üzere iki formu olduğunu bulmuşlardır. A formunun molekül ağırlığı 200 kDa ve C formunun molekül ağırlığı 35 kDa olarak verilmektedir. C formu A formuna, molekül ağırlığı 200 kDa olan dimerik bir protein varlığında dönüşmektedir. Adenozin deaminazın aktif formu C formu olup monomerik bir yapı göstermektedir. Enzimin A ve C formunun katalitik özellikleri birbirine benzemektedir.

Form C + ADA bağlayan protein -----> Form A

Ungerer ve ark.ları (1992), yaptıkları çalışmalarında doku ve hücrede adenozin deaminazın en az üç moleküler formda bulunduğunu göstermişlerdir. ADA₁' in molekül ağırlığı 35 kDa olup monomerik bir yapı göstermektedir. ADA_{1+cp}' nin (CP; bağlayıcı protein) molekül ağırlığı 280 kDa olup iki ADA₁ molekülünün bir ADA bağlayıcı proteine bağlanmasından meydana gelmektedir. Üçüncü enzim formu ADA₂ olarak verilmektedir.

Serumda enzimin ADA_{1+cp} ve ADA₂ formları bulunmaktadır. Serum baskın olarak ADA₂ ve bir miktar ADA_{1+cp} içermektedir. Örneğin kontrol serumunda 15 Ü/L bulunan ADA aktivitesinin 11 Ü/L'si ADA₂ olup 4 Ü/L'si ADA_{1+cp} olmaktadır. Bu durum akut lenfoblastik lösemili (ALL) hasta serumunda farklı görülmektedir. Bu hastaların serumlarında ADA_{1+cp}, ADA₂ den daha yüksek aktivitede bulunmaktadır (Ungerer et al. 1992).

Daddona ve Kelley (1978), enzimin insan dokusunda üç moleküler formunu elde etmişlerdir. Küçük, orta ve büyük boy olarak adlandırılan bu izoenzimlerin molekül ağırlıkları sırasıyla 38 kDa, 114 kDa ve 298 kDa olarak verilmektedir. Enzimin küçük formu eritrositlerden elde edilmekte ve bu formun molekül ağırlığı 38 kDa olan bir polipeptid zincirine sahip olduğu gösterilmektedir. Wan Der Weyden ve Kelley (1976), küçük boy izoenzimin büyük boy izoenzime pH = 5 - 6 ve 40°C de dönüşebildiğini bulmuşlardır.

Spencer ve ark.ları (1968), elektroforezde eritrosit adenozin deaminaz enziminin ADA₁, ADA₂ ve ADA₂₋₁ olmak üzere üç moleküler formunu tespit etmişlerdir. Farklı insan gruplarında eritrosit adenozin deaminazın bu üç formu üzerinde İngiltere, Afrika ve Hindistan' da araştırmalar yapılmış ve bu ülkelerde eritrosit ADA₁ formunun ADA₂ ve ADA₂₋₁ formuna oranla daha fazla olduğu bulunmuştur.

Muraoka ve ark.ları (1990), serum adenozin deaminazı üzerine çalışmalar yapmışlar ve enzimin üç moleküler formunu bulmuşlardır. Bunlar ADA₁, ADA₂ ve ADA₃ olup moleküler ağırlıkları sırasıyla 35 kDa, 280 kDa ve 100 kDa olarak verilmektedir.

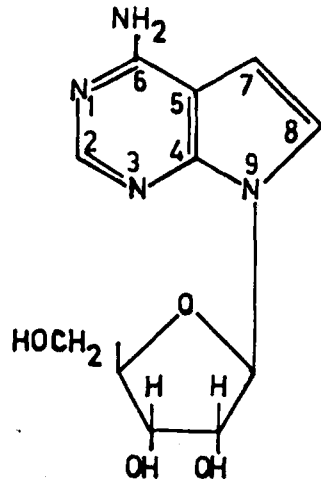
2.1.5. Adenozin Deaminazın Substratları

İnsan eritrositlerinde adenozin deaminaz için kullanılan substratlar ve kinetik özellikleri Tablo 2.1' de verilmektedir (Agarwal et al. 1975).

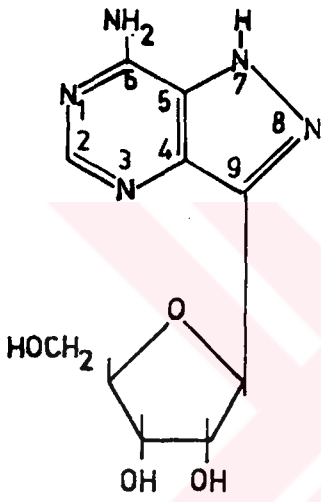
Tablo 2.1. Adenozin deaminaz substratların kinetik özellikleri.

	K_m (mM)	V_{max}
Adenozin	25	100
Formisin A	1.000+	750-850
8- Azaadenozin	130	310
Tubersidin	++	++
Toyokamsin	++	++
6-Kloropürin ribonükleozid	1000	91
2.6-Diaminopürinribonükleozid	74	91
2-Fluoradenozin	++	++
2-Fluorodeoksiadenozin	++	++
6-Metilselenopürinribonükleozid	27	88
2'-Deoksiadenozin	7	60
Ksilosiladenin	33	62
Arabinosiladenin	100	47
3'-Deoksiadenozin	41	110
3'-Amino-3'-deoksiadenozin	133	89
4'-Tiadenozin	13	43

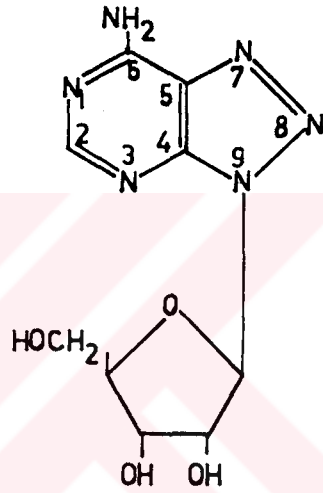
+ : K_m değeri çok yüksek olduğu için kesin değerlendirme güçtür.
++ : 10dk. inkübasyon sonunda aktivite alınmamıştır.



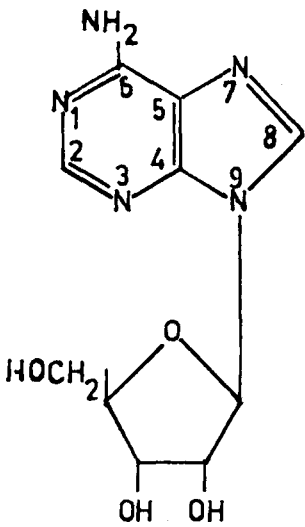
Tübersidin



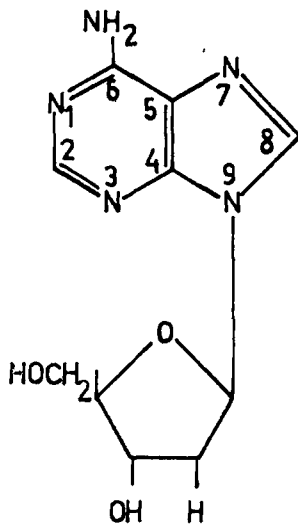
Formisin A



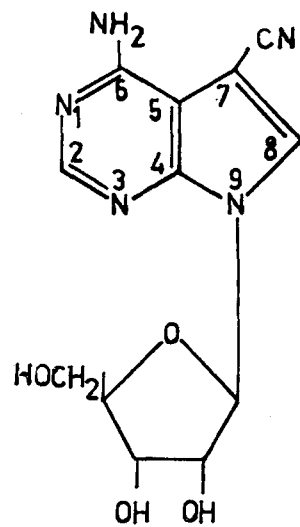
8 - Azaadenozin



Adenozin



2'-Deoksiadenozin



Toyokamsin

Şekil 2.7 : Adenozin deaminazın substratları.

Agarwal ve ark.ları, yapmış oldukları çalışmalarda 2'- karbonun substrat bağlamada önemli bir rolü olduğunu göstermişlerdir. Adenozinin karbonhidrat bölümündeki değişiklikler enzim reaksiyonunun V_{max} ' larında orta bir etkiye sahip iken K_m değerlerinde etki daha çarpıcı olmaktadır. Adenozinin, 2'- deoksiadenozinde olduğu gibi "OH" grubunun yerine "H" grubunun gelmesi ile K_m değerlerinde artma görülmektedir. K_m ' deki bu artış yaklaşık dört kat olarak bulunmaktadır. Adenozin ile 8- azaadenozin, formisin A, tübersidin (7- deazaadenozin) ve toyokamsin karşılaştırıldığı zaman imidazol zincirinin etkisi görülmektedir (Şekil 2.7). İmidazol zincirinde N-7 atomunun tübersidinde olduğu gibi C ile yer değiştirmesi enzim ile substratın birleşme kapasitesini azaltmaktadır. C-8' in nitrojen atomu ile yer değiştirmesi (8- azaadenozin ve formisin A' da olduğu gibi) deaminasyon hızını artırmaktadır. Formisin A ve 8- azaadenozinin yapılarındaki imidazol bölümünde modifikasyon bulunmaktadır. Bunların K_m değerlerinin adenozine göre sırasıyla 4 - 40 kat yüksek olmasına karşılık deaminasyonları sırasıyla 3 ve 8 kat daha hızlı olmaktadır. 6- Metilselenopürin ribonükleozidin K_m değeri adenozine yakın bulunmaktadır. 6- Kloropürin ribonükleozid ve 2,6- diaminopürin ribonükleozidin eritrosit enzim V_{max} ' ları adenozin ile kıyaslanabilir değerde olmasına karşılık K_m değerlerinin yaklaşık 4 kat daha yüksek olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda (Tablo 2.1) 10 dakika inkübasyon sonunda substrat olarak kullanılan 2- fluoroadenozin (F-Ado) ve tübersidinden ADA aktivitesinin alınmadığı görülmektedir. Bunlar eritrositlerde

fosforile olup fazla miktarda trifosfat nükleotidler oluşturmaktadırlar. Diğer yandan formisin A gibi ADA için substrat olan analoglar insan eritrositlerinde nükleotid form oluşturmazlar (Agarwal et al. 1975).

2.1.6. Enzim İnhibisyonu

İnsan eritrositlerinde adenozin deaminaz inhibitörleri ve K_i değerleri Tablo 2.2' de verilmektedir (Agarwal et al. 1975).

Tablo 2.2. İnsan eritrosit adenozin deaminaz inhibitörleri.

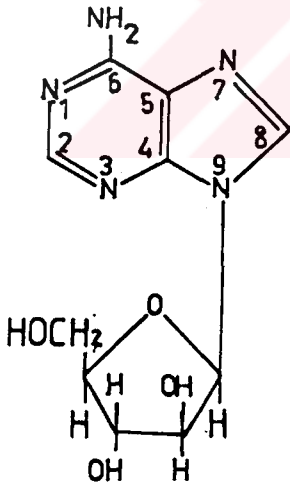
İnhibitörler	K_i (mM)
İnozin	116
2 ^L - Deoksiinozin	60
Guanozin	140
2- Fluoroadenozin	60
2- Fluorodeoksiadenozin	19
N ⁶ - Metiladenozin*	17
N ¹ - Metiladenozin	275
N ⁷ - Metilinozin	+
N ⁷ - Metilguanozin	+
6- Tioguanozin	92
6- Tioinozin	330
6- Metiltiinozin*	270
Arabinozil 6- tiopürin	360
Tübersidin	+
Toyokamisin	+
Dipiridamol	+
Koformisin	0.01

* : N⁶-metiladenozin ile zayıf substrat aktivitesi elde edilmiştir. 6- Metiltiinozin ve N¹-metiladenozinin substrat aktivitesi elde edilememiştir.

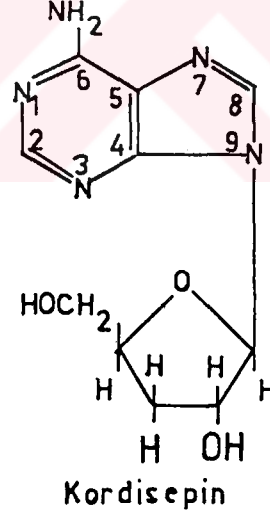
+ : 1 M/L konsantrasyonda inhibisyon alınamamıştır. Dipiridamol 0.1 M/L konsantrasyonda kullanılmıştır.

Tübersidin (7- deazaadenozin) ve toyokamisin 1 M / L konsantrasyonda inhibitör etkisi göstermemektedirler. N⁷-

Metilguanozin (1 M / L) ve dipridamol (0.1 M / L) enzim aktivitesini inhibe etmemektedirler. 2- Fluoroadenozin ve 2- fluorodeoksiadenozin enzimin etkili inhibitörleri arasında yer almakta olup 2- fluorodeoksiadenozinin K_i değeri 2- fluoroadenozinden üç kat daha az bulunmaktadır. K_i değeri 17 mM olan N⁶- metiladenozin, adenozin deaminazın kompetitif inhibitörüdür. Koroner vazodilatör olarak kullanılan dipridamolün 0.1 M / L konsantrasyonunun eritrosit ADA üzerine inhibisyon etkisi bulunmamaktadır. Bunun daha yüksek konsantrasyonunun enzimi inhibe ederek adenozin konsantrasyonunu yükselttiği bilinmektedir. İnozin, deoksiinozin, guanozin kompetitif inhibisyon göstermektedirler. Antibiyotik olarak kullanılan koformisin, ADA' nın güçlü bir inhibitörü olup yapısı tam olarak aydınlatılamamıştır.



Arabinozil adenin

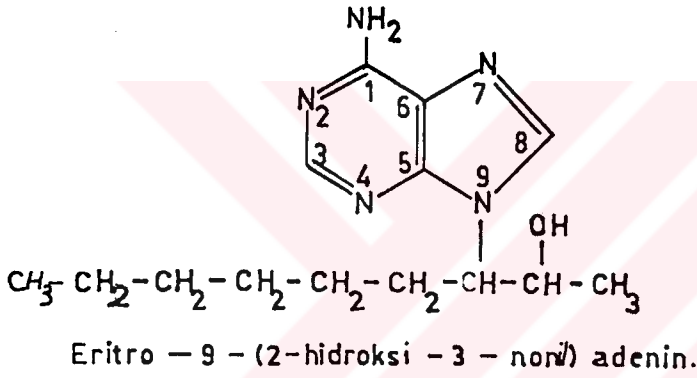


(3'- deoksiadenozin)

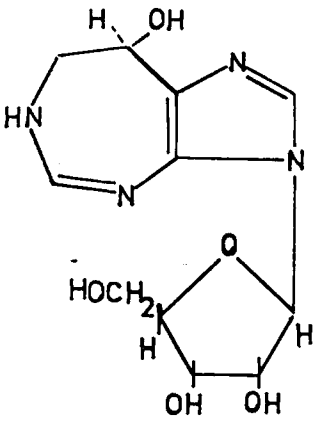
Şekil 2.8: Adenozin Analogları.

Arabinozil adenin (Ara-Ade), tübersidin, kordisepin (3'deoksi-adenozin) gibi adenozin analogları antitümöral, antiviral veya antiparaziter olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.8) (Agarwal et al. 1975).

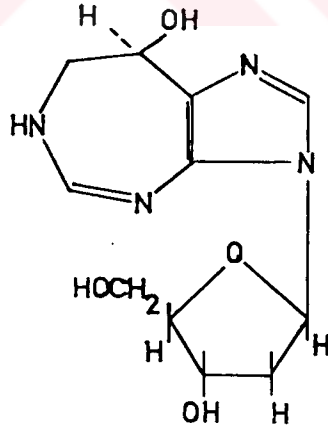
Adenozin deaminaz adenozin dışında diğer pürin nükleozidler tarafından inhibisyona uğramaktadır. Eritrositlerde bulunan adenozin deaminaz izoenzimlerinin üzerine adenozin dışında diğer pürin nükleozidler tarafından yapılan inhibisyon incelendiğinde ADA₁ için; K_i (mM) değeri 8.4 ± 0.73, ADA₂ için; K_i (mM) değeri 8.7 ± 0.67, ADA₂₋₁ için; K_i (mM) değeri 8.7 ± 0.65 olarak bulunmaktadır (Osborne ve Spencer, 1973).



E H N A



Koformisin

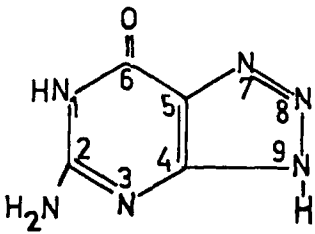


2'-deoksikoformisin.

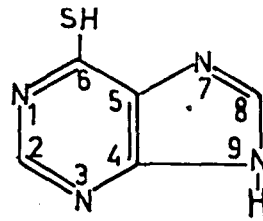
Şekil 2.9: ADA inhibitörleri (1).

2'- Deoksikoformisinin (dCf = Pentostatın = kovidarabin) lenfoproliferatif kanser için tedavi amacıyla kullanılmaktadır. 2'- Deoksikoformisinin küçük tedavi edici dozları T- hücre lösemili hastalarda iyi sonuçlar vermektedir. dCf verildikten sonra plazma adenozin ve 2'- deoksiadenozin seviyeleri yükselmekte olup ATP üretimi artmakta ve eritrositlerde dATP yığılması görülmektedir (Goldberg 1965, Valentine et al. 1977, Ottaway ve Apps 1984, Tanaka et al. 1989, Kane et al. 1992). 2'- Deoksikoformisin doza bağılı olarak nörolojik bozukluklara neden olmaktadır (Kellems et al. 1985). 2'- Deoksikoformisin ve EHNA [eritro - 9 - (2 - hidroksi - 3 - nonil) adenin] ADA' nın güçlü inhibitörleri arasında yer almaktadır. 2'- Deoksikoformisin ve koformisin, EHNA' dan daha güçlü bir inhibisyon etkisine sahip bulunmaktadır (Şekil 2.9). 3.6 mM / L EHNA % 96 inhibisyona neden olurken, 2'- deoksikoformisin ve koformisin % 98 - 99 inhibisyon vermektedir (Henderson et al. 1977).

Adenin nükleozid analoglarından vidarabine (9 - β - D - Arabinofuranoziladenin) antiherpetik ilaç olarak kullanılmaktadır (Maury et al. 1991).



8 - azaguanin



6 - merkaptopürin

Şekil 2.10: ADA inhibitörleri (2).

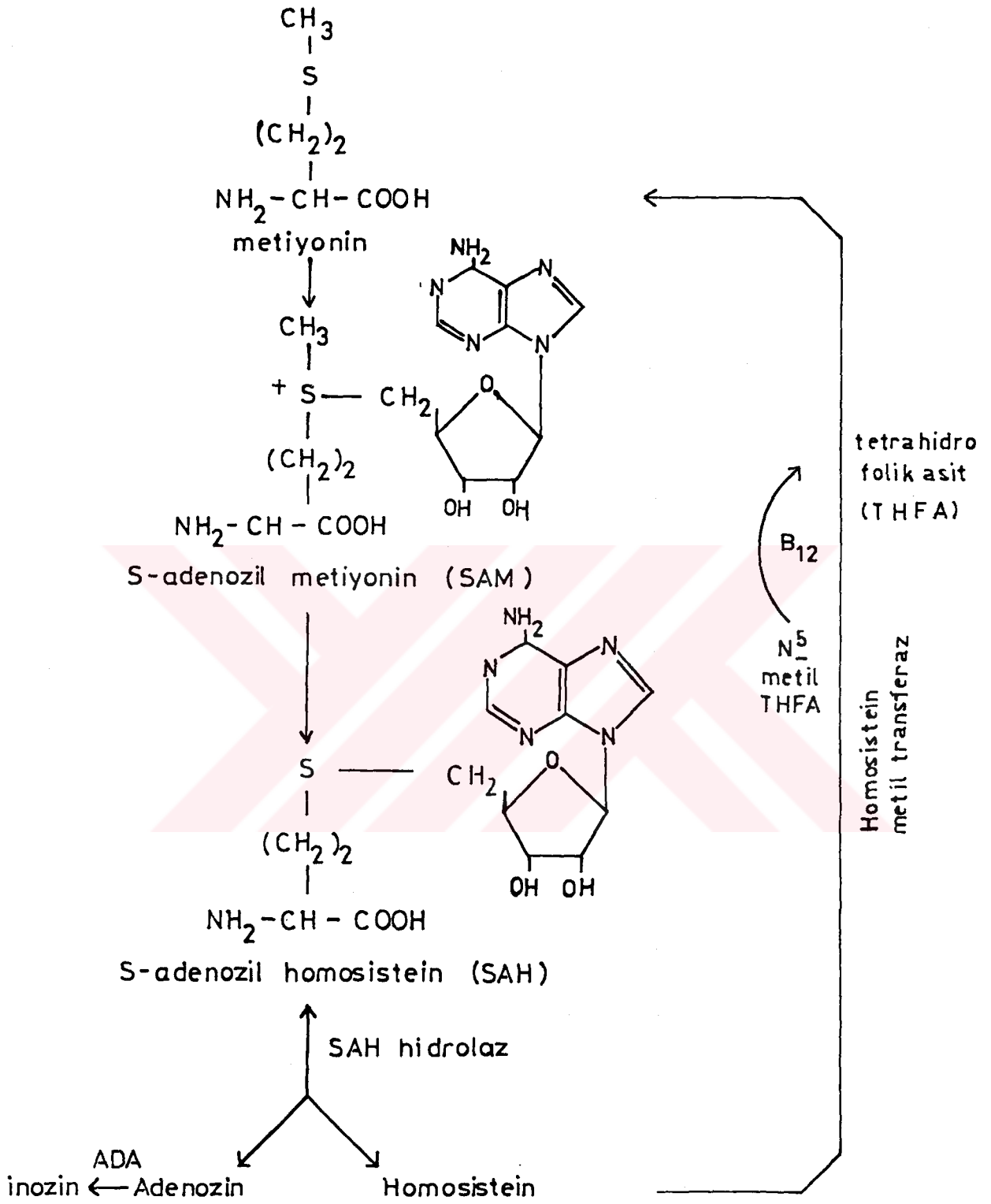
ADA'nın inhibitörleri immunosupresan olarak kullanılabilir. Bu pürin analoglarından 8- azaguanin % 100 inhibisyona neden olurken 6- diaminopürin ve 6- merkaptopürin daha az inhibisyon göstermektedirler (Şekil 2.10) (Feigelson ve Davidson, 1956). p-Kloromerküribenzoat tarafından inhibisyon en fazla enzimin küçük formuna olurken bunu büyük ve orta form izlemektedir (Van Der Weyden ve Kelley, 1976).

Adenozin deaminazın inhibitörlerinden adesifenolün 5 µg/ml' si 20 µg/ml deoksiadenozin üzerine eklendiği zaman % 90 inhibisyona neden olmaktadır (Tanaka et al. 1989).

2.2. Adenozin ve 2'- Deoksiadenozin

Adenozin ve 2'- deoksiadenozin pürin yıkım yolunun ara metabolitleridir. Pürin yıkım yolunda AMP ve dAMP' nin 5'- nükleotidaz enzimi ile defosforile olması ile adenozin ve 2'- deoksiadenozin meydana gelmektedir (Seegmiller 1985). Adenozin deaminaz için doğal bir substrat olan adenozin, aynı zamanda hücrenin normal fonksiyonunu görmesi için gerekli olan metilasyon reaksiyonu sonucunda elde edilmektedir. Bu reaksiyonda, S- adenozil metiyonin (SAM), S- adenozil metiyonin metil transferaz enzimi ile S- adenozil homosisteine (SAH) ve SAH hidrolaz ile homosistein ve adenozine dönüşmektedir (Ciliv ve ark. 1980, Seegmiller 1985, Kellems et al. 1985).

ADA eksikliği ile ortamda artan adenozin SAH' ın yığılmasına neden olmaktadır. SAH' ın yığılması SAM ile SAH' ın



Şekil 2.11 : Metiyonin - Homosistein döngüsü ile adenosin eldesi.

yarışmaya girmesine ve buna bağlı olarak metilasyon reaksiyonunun durmasına neden olmaktadır. ADA eksikliği ile ortamda artan diğer bir substrat olan 2'- deoksiadenozin ise SAH hidrolazın inaktivatörü olup SAH hidrolazı doğrudan inhibe etmektedir. ADA eksikliği olan hastalarda SAH hidrolaz enziminin normalden % 2 daha az olduğu gözlenmektedir. Homosistein, homosistein metil transferaz ile metil grubunu transfer ederek metiyonini oluşturmaktadır. Kobalamin (B₁₂), homosisteinin metiyonine dönüşümü için bir faktör olmaktadır. Kobalamin eksikliği ile ortamda SAH konsantrasyonu artmakta ve böylece metilasyon reaksiyonu durmaktadır (Şekil 2.11) (Kellems et al. 1985).

Adenozin hücre içine girdiği zaman üç alternatif metabolizma ile karşı karşıya gelmektedir. Bunlardan birincisi SAH hidrolaz ile S-adenozil homosistein oluşumu, ikincisi adenozin kinaz ile adenilik asite (AMP---->ATP) fosforilasyonu ve üçüncüsü de ADA ile inozine deaminasyonudur. Bu üç alternatif yollardan enzim substrat ilgisi en fazla olan birinci reaksiyon olup bunu ikinci ve üçüncü reaksiyonlar izlemektedir. Bunun için adenozin konsantrasyonu düşük olduğunda adenozinin büyük kısmı ATP' ye fosforillenirken, adenozinin yüksek konsantrasyonunda inozine deaminasyonu görülmektedir.

Substrat olarak 2'- deoksiadenozin kullanıldığında iki alternatif metabolizma bulunmaktadır. Bunlardan birincisi ADA ile deoksiinozin oluşturmak üzere deaminasyonu, ikincisi deoksiadenozin kinaz ile deoksiadenilik asite fosforilasyonudur. 2'- Deoksiadenozinin düşük konsantrasyonunda 2'- deoksiinozin oluşurken yüksek konsantrasyonunda dAMP meydana gelmektedir (Meyskens ve

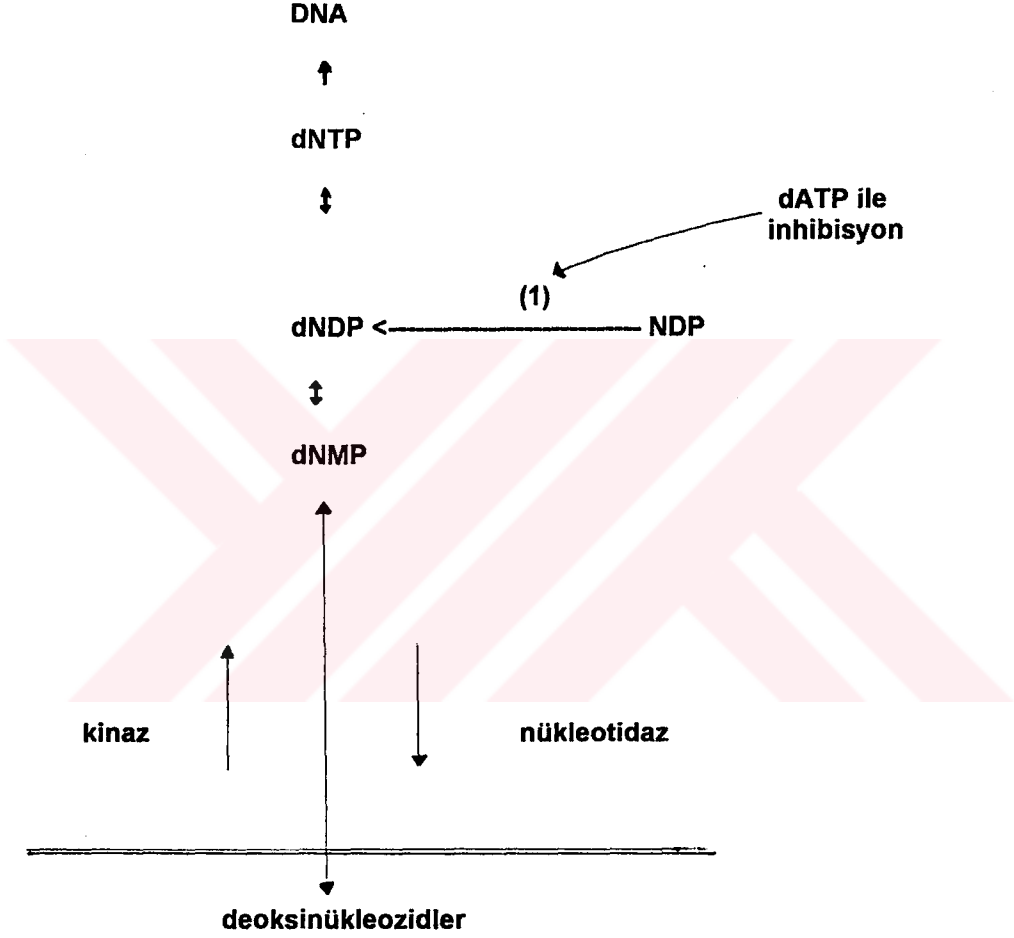
Williams 1971, Seegmiller 1985, Franco et al. 1990).

Adenozin, koroner vazodilatasyona yol açarak koroner akımı düzenlemektedir. İskemik kalpte katekolaminlerin etkilerini azaltmaktadır (Achterberg et al. 1985). Bir antikonvulsan olan adenozin prolaktin, insülin ve glukagon salınımını stimüle etmektedir. Adenozinin yüksek konsantrasyonları memeli hücrelerde toksik olup immun cevabın inhibisyonuna ve çeşitli metabolizmalardaki değişikliğe, fosforibozil pirofosfat sentezini azaltarak pirimidin biyosentezinin inhibisyonuna yol açmaktadır (Hirschhorn 1993). Pirimidin sentezinde oratat fosforibozil transferaz enzimi için fosforibozil pirofosfatın ortamda bulunması gerekmektedir. Adenozin fosforibozil pirofosfatın sentezini azaltarak pirimidin sentezini inhibe etmektedir. Böylece ortamda orotik asit birikmekte ve pirimidin sentezi durmaktadır (Mathews ve Van Holde, 1990).

2.2.1. dATP Yığılmasının Metabolik Sonucu

Adenozin metabolizmasının bir ürünü olan dATP, DNA sentezi için gerekli normal bir ön maddedir. Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlarda zararlı etkiler göstermektedir. ADA eksikliğinin bir sonucu olarak ortamda dATP konsantrasyonu artmaktadır. dATP hücrenin büyümesi için gerekli olan bir enzim olan ribonükleotid redüktazı inhibe etmektedir. Bunun sonucu olarak DNA yapımı inhibe olmakta ve DNA iplik kırılmaları artmaktadır. Bu iplik kırılmaları hücrenin normal görevini yapmasına engel olmakta ve sonuçta ölüm olayı gerçekleşmektedir (Kane et al. 1992, Korkmaz ve Kocabay, 1995).

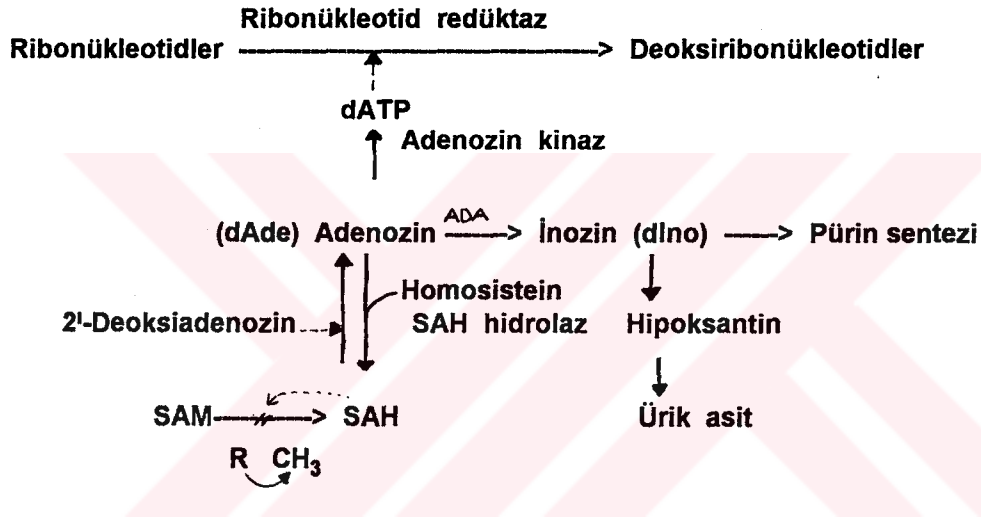
DNA sentezinin dATP ile inhibisyonu Şekil 2.12' de gösterilmektedir (Carson et al. 1985).



(1) Ribonükleotid redüktaz

Şekil 2.12. DNA sentezinin dATP ile inhibisyonu

Bu şekilde görüldüğü gibi üretim nükleozid difosfat (NDP) basamağında olmaktadır. Sonuç olarak dNDP ya hızla DNA' ya dönüşmekte ya da deoksinükleozidlere yıkılmaktadır. Lenfositlerde ve diğer memeli hücrelerinde deoksinükleotid havuz büyüklüğü az olup, DNA sentezi için çok kısa bir süre yeterli olmaktadır. dATP, ribonükleotid redüktazı inhibe ettiği için dNDP yeterli sentezlenememektedir (Carson et al. 1985). Kısaca bu konuyu Şekil 2.13 üzerinde özetleyebiliriz (Kane et al. 1992).



-----> inhibisyon

Şekil 2.13. dATP yığılmasının metabolik sonucu.

Yukarıdaki şekilde görüldüğü gibi adenosin ve 2'-deoksiadenosin ya dATP' ye fosforillenmekte ya da ADA enziminin etkisiyle deaminasyona uğrayarak ürik asiti meydana getirmektedir. Ortamda adenosin veya 2'- deoksiadenosin arttığında dATP konsantrasyonu artacağından DNA'nın sentezi inhibe olmaktadır (Kane et al. 1992). 2'- Deoksiadenosin 1 mM olduğu zaman insan

lenfositlerinde dATP yığılması görülmektedir (Seegmiller 1985). Adenozin konsantrasyonunun artması ile görülebilecek diğer bir durum SAH miktarında meydana gelen artış olmaktadır. 2'-Deoksiadenozin SAH hidrolazı inhibe ederek metilasyonun gerçekleşmesini engellemektedir (Kane et al. 1992).

2'- Deoksiadenozin ile inkübe edilmiş lenfositlerde zamana bağlı olarak gözlenen metabolik değişiklikler Tablo 2.3' te verilmektedir (Carson et al. 1985).

Tablo 2.3. 2'- Deoksiadenozin ile inkübe edilmiş lenfositlerde gözlenen metabolik değişiklikler.

2 saat	↑	dATP
4 saat	↑	DNA iplikcik kırılmaları artar.
	↓	RNA sentezi azalır.
8 saat	↓	NAD ⁺
24 saat	↓	ATP
48 saat		Canlılığın kaybı

2'- Deoksiadenozin eklenmesinden 2 saat sonra dATP' nin hücre içinde birikimi gözlenmektedir. Dört saat sonra dATP ' nin aşırı miktarda oluşumu sonucu DNA iplikcik kırılmaları artmakta ve RNA sentezi azalmaktadır. DNA iplik kırılması ADP riboziltransferazın aktivitesini sürekli artırmakta ve dehidrogenazlar için bir kofaktör

olan NAD^+ ' nin azalmasına neden olmaktadır. Bu da gliseraldehid -3- fosfat dehidrogenaz için önemli olup NAD^+ ' nin yeterince olmaması durumunda etkisi sona ermekte ve glikolizde ATP sentezi durmaktadır. Yirmi dört saat sonra lenfosit NAD^+ havuzu boşalmakta ve bunu ATP konsantrasyonundaki azalma izlemektedir. Sonuçta kırk sekiz saat içinde hücre ölümü gerçekleşmektedir (Carson et al. 1985).

2.3. Adenozin Deaminazın Lokalizasyonu

Adenozin deaminaz, insan vücudunda yaygın olarak bulunan bir enzim olup hücrenin sitoplazmasında ve bazı hücrelerin de çekirdeğinde yer almaktadır (Giusti 1974, Centelles ve Franco 1987).

İnsan dokularında adenozin deaminaz en fazla dalakta en az miktarda ise tiroid dokusunda bulunmaktadır. Adenozin deaminazın insan dokularındaki aktivitesi Tablo 2.4' te verilmektedir. Adenozin deaminaz enziminin büyük formu düşük enzim aktivitesi gösteren dokularda daha fazla bulunmaktadır. Bu dokular arasında karaciğer, kas, akciğer, tiroid ve bağırsak sayılmaktadır. En az enzim aktivitesi tiroid dokusu içerdiğinden büyük boy izoenzim en fazla burada bulunmaktadır (Van Der Weyden ve Kelley 1976, Starkey et al. 1989).

ADA bağlayıcı protein (ABP), insan serumunda serbest moleküler formda dimerik olarak bulunmaktadır. En fazla miktarda böbrekte en az miktarda ise eritrosit ve trombositlerde bulunan ABP, bir integral membran protein olup membranın iç ve dış yüzüyle bağlantılıdır (Daddona ve Kelley 1978, Centelles ve Franco 1987, Starkey et al. 1989). İnsan dokularında ve vücut sıvılarında ADA

bağlayan protein aktivitesi Tablo 2.5' te verilmektedir (Schrader ve Stacy, 1979).

Tablo 2.4. İnsan dokularında adenozin deaminaz aktivite düzeyleri.

Doku	Spesifik aktivite Ü/mg protein	% Total aktivite		
		Büyük	Orta	Küçük
Dalak	128	10	2.0	86
Duodenum	127	9	0.7	89
Mide	89	2	0.3	96
Jejenum	63			
Pankreas	27			
Beyin	27			
Adrenal Bez	21			
Lenf Nodu	23			
Appendiks	20	8	2	87
Testis	13			
Kalp kası	11			
Karaciğer	9	59	12	24
Beyincik	9			
Omurilik	9			
İskelet Kası	8			
Akciğer	7	74		
Böbrek	6	86		
Tiroid	4			

Tablo 2.5. İnsan dokularında ve vücut sıvılarında ADA bağlayan protein aktivitesi.

Örnek	Spesifik aktivite mÜ ADA bağlayan protein / mg protein
Böbrek korteksi	810
Böbrek medullası	280
Karaciğer	4.4
Akciğer	7.2
Dalak	3.2
Fibroblastlar	87
Eritrositler	< 0.01
Trombositler	< 0.01
Plazma	1.1
Serum	1.3
Tükürük	15

2.3.1. Adenozin Deaminazın Klinik Önemi

Adenozin deaminaz enziminin hücrede gerekli işlevini yerine getirebilmesi için maksimum düzeyi gerekmektedir. ADA aktivitesi immun fonksiyonun değerlendirilmesinde bir kriter olmaktadır. İmmunitenin arttığı durumlarda ADA aktivitesi artmakta, immunitenin azaldığı durumlarda ise ADA aktivitesi azalmaktadır (Valentine et al. 1977). Enzimin eksikliği tek baz çifti mutasyonun sonucu olarak meydana gelmektedir (Donma ve Donma, 1996).

Lenfositlerde özellikle T lenfositlerinde yüksek aktivitede bulunan enzimin kalıtsal eksikliği, T ve B lenfositlerin fonksiyonlarının bozulması ile şiddetli kombine immun yetmezlik (ŞKİY-SCID) durumuna öncülük etmektedir (Chen et al. 1978, Marmocchi et al. 1987, Franco et al. 1990, Kane et al. 1992). ŞKİY kalıtsal olarak iki farklı şekilde bulunmaktadır. Birinci şekil, x kromozomuna bağlı kalıtsal resessif bozukluk olup sadece erkeklerde bulunmaktadır. Diğer şekil ise otozomal resessif olarak taşınarak her iki cinsiyette de gözlenebilmektedir (Hirschhorn 1993). ŞKİY' liği olan hastaların plazma ve idrarlarında adenozin (Ade) ve 2'- deoksiadenozin (dAde) düzeyleri yüksek olup idrarla çok miktarda 2'- deoksiadenozin atılmaktadır (Bory et al. 1990, Hirschhorn 1993).

Hamilelik ile immünite düşmesi arasında bir ilişki bulunmakta olup, hamilelerde serum ADA aktivitesinde azalma gözlenmektedir (Jaqueti et al. 1990).

Eklem hastalıklarında eklem sıvısı ADA aktivitesi yüksek bulunmaktadır. Seropozitif romatoid artrit, seronegatif poliartrit, juvenil kronik artritlerde eklem sıvısı ADA aktivitesinde artma görülmektedir (Pettersen et al. 1988).

Tüberküloz hastalarında beyin omurilik sıvısı (BOS) ve periton sıvısında ADA aktivitesi, tüberküloz menenjitde BOS ADA aktivitesinde olduğu gibi yüksek bulunmaktadır . Bakteriyel ve viral menenjitde ise bu yükseklik tüberküloz menenjitdekinden daha az miktarda olmaktadır (Piras ve Gakis 1973, Segura et al. 1989, Gakis et al. 1991, Banales et al. 1991). Periton tüberkülozunda serum ve periton asit sıvı ADA aktivitesi kontrol grubuna göre oldukça yüksek

bulunmaktadır (Kobayashi et al. 1993). Tüberküloz plevral efüzyonlarda ADA aktivitesinin kontrollerden yüksek olduğu ve ADA aktivitesindeki bu yüksekliğin ADA₂'den kaynaklandığı söylenmektedir. Tüberkülozlu hastaların serumlarında bulunan ADA aktivitesi plevral efüzyonlarda bulunan ADA aktivitesinden daha düşük olmaktadır. Tüberküloz tedavisi sonunda plevral efüzyonlarda toplam ADA aktivitesinde ADA₂ aktivitesinin düşmesine bağlı olarak azalma görülmektedir. Tüberküloz tanısında plevral efüzyonlarda ADA₂ aktivitesinin ölçümü anlamlı bir kriter olarak açıklanmaktadır (Shibagaki et al. 1996, Antony 1996).

Hemolitik anemide eritrosit ADA aktivite düzeyi yüksek, adenosin trifosfat konsantrasyonu düşük bulunmaktadır (Valentine et al. 1977, Chottiner et al. 1989, Franco et al. 1990). Araştırmalar sonucunda hemolitik anemide eritrosit ADA aktivitesinde normal değerden 45 - 70 kat bir artış görülmektedir . Eritrosit ADA' nın fazla sentezi translasyonel seviyede meydana gelmektedir (Chottiner et al. 1989).

Siroz, peritoneal malignensi, alkolik hepatit, kronik aktif hepatit ve hepatomalı hastalarda serum ADA aktiviteleri kontrollerden daha yüksek olarak görülmektedir (Goldberg 1965, Bhargava et al. 1990, Kobayashi et al. 1993, Koizumi et al. 1993). Akut hepatitte ADA₁, alkolik hepatitte ADA₁ ve ADA₂, kronik hepatitte ADA₂ düzeyleri daha yüksek bulunmaktadır (Kobayashi et al. 1993).

Tifo ve brusella hastalarında serum ADA aktiviteleri kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artma görülmektedir (Balis 1985, Gakis et al. 1991, Khosla et al. 1992). Mikoiz ve sedef

hastalarında serum ADA aktivitesi kontrollere oranla daha yüksek olarak gözlenmektedir (Koizumi ve Ohkawara 1992, Koizumi et al. 1993).

Farklı mikroorganizmalar ile oluşan pnömoni hastalarında serum ADA aktivitesi kontrollerden daha yüksek bulunmaktadır. ADA aktivitesindeki bu artış chlamdial, mycoplazmal ve adenovirüs pnömonilerinde diğer mikroorganizmalarla oluşanlardan daha önemli olmaktadır (Klockars et al. 1991).

Birçok araştırmalar adenozin deaminaz enzimi ile kanser arasında bir ilişkinin olduğunu göstermektedir. Kanser tanısında kullanılan bazı tümör işaretleyicileri Tablo 2.6' de verilmektedir.

Biyolojik sıvılarda ve tümörlerde, değişik kanser gruplarında yapılan çalışmalar sonunda yüksek ADA aktivitesi alınmakta olup kemoterapi sonunda ADA aktivitesinin düştüğü gözlenmektedir. T hücre lösemili hastalarda serum ADA aktivitesi yükselmektedir (Balis 1985, Koizumi ve Ohkawara 1992, Namiot et al. 1994). Gastrik kanserli hastaların gastrik sıvılarında ADA aktivitesi kontrollerden daha yüksek bulunmaktadır. Lauren' in intestinal ve diffuz tip gastrik karsinoma sınıflandırmasına göre intestinal tip gastrik karsinomada doku ADA aktivitesi, difüz tip gastrik karsinomadaki doku ADA aktivitesinden daha düşük bulunmaktadır ($p<0.02$) (Namiot et al. 1994). İnsan kolon tümörleri ve normal kolonik mukozal hücrelerde yapılan çalışmalarda kolon tümörlerinde ADA aktivitesi normal mukozaya göre daha yüksek olarak elde edilmektedir. Normal insan kolonunda ADA' nın en fazla yüksek molekül ağırlıklı formu bulunmaktadır. Kolon karsinomalar ise ADA' nın küçük ve orta boy olan formlarıyla karakterize

edilmektedir. Yapılan çalışmalar kanser hücrelerinde ADA bağlayıcı proteinin az bulunduğunu ya da hiç bulunmadığını göstermektedir. Bu nedenle kanserli hücrelerde küçük boy ADA miktarının arttığı söylenebilmektedir (Trotta ve Balis 1978, Sanfilippo et al. 1994).

Böbrek hastalarında eritrosit ADA üzerine hemodiyalizin etkisi incelendiğinde, hemodiyaliz öncesi aktivitenin düştüğü ve hemodiyaliz sonrası aktivitenin arttığı görülmektedir (Severini 1994). Serum ADA aktivitesi AIDS' li hastalarda da yükselmektedir (Donma ve Donma, 1996).

Çeşitli vücut sıvılarında ve tümörlerde, değişik kanser gruplarında yapılan çalışmalar sonunda yüksek ADA aktivitesi alınmasına karşılık cilt kanserinde ve beyin tümörlü hastalarda serum ADA aktivitesinde kontrollere oranla önemli bir değişme gözlenmemektedir (Donma ve Donma 1986, Koizumi ve Ohkawara 1992).

2.4. ADA Aktivite Düzeyinin Ölçülmesinde Kullanılan Yöntemler

1- Adenozinin inozine dönüşümü 265 nm de izlenerek ölçülmüştür (Kalckar 1947, Goldberg 1965, Sim ve Maguire 1971, Osborne ve Spencer 1973, Agarwal et al. 1975, Gercignani 1987, Starkey et al. 1989, Centelles ve Franco 1990, Sato ve Aikawa 1991, Maury et al. 1991, Sanfilippo et al. 1994).

2- İnozinin, nükleozid fosforilasyonu ile hipoksantine, hipoksantinin ise ksantin oksidaz ile ksantine ve ürik asite dönüşümü 293 nm de ölçülmüştür (Hirschhorn et al. 1978).

3- Radyoaktif yöntemler

3.1. Radyoimmunoassay (RIA) (Dinjens et al. 1989).

3.2. İmmunohistochemistry (Dinjens et al. 1989).

3.3. ¹⁴C işaretli adenozin kullanarak yapılan ölçüm yöntemi (Henderson et al. 1977, Tax ve Weerkamp 1978).

3.4. Hunter ' in kloroamin T metodu ile ¹²⁵I ile işaretleme yöntemi (Daddona ve Kelley 1978).

4- Bertholet (Giusti) yöntemi. Oluşan indofenol ölçülmektedir (O'Donovan 1971, Giusti 1974, Petterson et al. 1988, Segura et al. 1989, Banales et al. 1991, Klockars et al. 1991, Ungerer et al. 1992, Khosla et al. 1992, Maury et al. 1991, Namiot et al. 1994, Severini 1994).

5- Sürekli izleme yöntemi. 340 nm de NADH absorbansındaki düşme sürekli olarak gözlenmektedir .



5.1. Analizör kullanarak yapılan otomatik ölçüm yöntemleri .

5.1.1. Technicon RA-XT (Erel, 1993).

5.1.2. Hitachi 705 (Muraoka et al. 1990).

5.1.3. Cobas Mira (Oosthuizen et al. 1993).

6- Fujii ' nin metodu. Sodyum nitroprussid varlığında fenol ve perklorik asit eklenerek oluşan indofenol 630 nm de ölçülmektedir (Koizumi ve Ohkawara 1992).

2.5. Kanser

Normalde dokuların gelişmesini aşan, normal dokulara uyum göstermeyen ve kendisini meydana getiren uyarının ortadan kalkması durumunda bile aşırı seyirinde devam eden bir doku kitlesine tümör adı verilmektedir. Tümörler vücuda yararlı hiç bir iş yapmaksızın, kandan besleyici maddeleri alarak ve normal dokuların zararına gittikçe artan bir yaşam gücü ile üreyen bir parazit gibi davranmaktadırlar. İyi huylu (selim) ve kötü huylu (habis) terimleri onların klinik gidişlerine ve şekil özelliklerine göre kullanılmaktadır. İyi huylu tümörler, yavaş büyümekte ve belli bir büyüklüğe eriştikten sonra durabilmektedirler. Önemli bir organda hasar meydana getirmezlere hastanın sağlığını etkilememekte olup genellikle olgun tipte dokulardan oluşmaktadırlar. İyi huylu tümörler metastaz yapmazlar. Metastaz, kötü huylu tümörlerin yayılması olayı olarak tanımlanmaktadır. Metastaz çeşitli dokuların tümör gelişimine elverişli olup olmamasına bağlı olarak gelişmektedir. Metastaz en fazla lenf bezlerinde, akciğerde, karaciğerde, kemikte, böbrekte görülmektedir. Dalak ve çizgili kasta daha seyrek bulunmaktadır. Kötü huylu tümörler genellikle iyi huylu tümörlerden daha hızlı büyüyen, normal dokulara invazyon yapan , etkin şekilde tedavi edilmedikleri takdirde sağlığı bozan ve sonunda ölüme neden olan tümörlerdir. Kötü huylu tümörler kanser olarak da tanımlanabilmektedirler (Aykan ve ark. 1987). Kanser en kısa tanımı ile hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmaları demektir. Bu çoğalma sırasında kanser hücresi, bazen normal hücrenin yaptığı işlevi yapmazken bazen de normalde olmayan

işlevleri de yapmaya başlayabilmektedir (Kutluk ve Kars 1994).

Belirli bazı tümörlerin görülme sıklığı kadın ve erkeklerde farklılık göstermektedir. Bu farklılığa immun sistem etkinliğinin iki cinsten farklı oluşu ve özel cinsiyet hormonlarının varlığı neden olmaktadır. Bununla beraber sigara, iş ortamı, sosyo-ekonomik durumlar ve benzer çevresel faktörleri kanser oluşumuna neden olanlar arasında sayabilmekteyiz. Erkeklerde ölüme neden olan kanser türleri arasında başta gelenler, sıklık sırasıyla akciğer, kolon ve rektum kanseri olup kadınlarda bu sıra meme, kolon ve rektum kanseri olarak görülmektedir. Kötü huylu tümörlerin görülme sıklığı yaşla sınırlanılmaz, bununla beraber çoğu yaşlılarda görülmektedir. Bu, yaşlılıkta immunitenin azalması veya yaşlanan hücrelerde büyük ölçüde mutasyon eğilimi olması ile ilgili olabilmektedir. Çocukluk döneminin belli başlı kanser tipleri arasında lösemi, habis lenfoma, sinir tümörleri (nöroblastom, beyin tümörleri, retinoblastomlar), kemik ve bağ dokusu tümörleri yer almaktadır. Bazı araştırmacılar protein ve yağdan zengin diyetin kanser eğilimi yarattığını iddia ederken, diğerleri karbonhidratlarca zengin ve posa bırakmayan diyetlerin kansere yol açtığını savunmaktadır. Diyetle kanser arasındaki nedensel bağlantıyı açıklayan hipotezlerden biri, bağırsak bakterilerinin diyetteki maddelere ya da bu maddelere yanıt olarak yapılan salgılar üzerine yaptığı etki üzerinde durmaktadır. Bu etkileşme sonunda diyetteki yağ, protein ya da safra asitlerinden karsinojenler ortaya çıkmaktadır (Aykan ve ark. 1987).

Kötü huylu olarak gelişen doku kitlesinin oluşumunun kalıtsal olduğu düşünülmektedir. Bazı kanserlerde değişikliğe uğramış

kromozomlar görülmektedir. Ancak gen değişikliklerinin kanserli dokuda ve onun hücrelerinde ne gibi değişikliğe yol açacağı bilinmemektedir. Sager, kanser oluşumunda üç farklı genetik özellikten bahsetmektedir. Bunlar DNA hasarı, kromozomların kırılması, gen replikasyonu yoluyla mutant hücrenin büyümesi olarak gösterilmektedir (Yenson 1984, Statland ve Winkel 1989).

Kanserler, farklı klinik ve biyokimyasal bulgular ile değerlendirilmektedir. Kanser tanısında kullanılan bazı tümör işaretleyicileri Tablo 2.6' da verilmektedir (Murray 1988, Gaw et al. 1995).

Tablo 2.6. Klinikte kullanılan bazı tümör işaretleyicileri.

İşaretleyiciler	Kanser türü
Karsinoembriyonik antijen (CEA)	Kolon, akciğer, göğüs, pankreas
Alfa-fetoprotein (AFP)	Karaciğer, üreme hücresi
Human koriyonik gonadotropin(hCG)	Trophoblast, üreme hücresi
Kalsitonin (CT)	Tiroid
Prostatik asit fosfataz (PAP)	Prostat

Karsinoembriyonik antijen (CEA), kolon, akciğer, pankreas, göğüs kanserinin tanısında, alfa fetoprotein (AFP), karaciğer ve üreme hücresi kanserinin tanısında, human koriyonik gonadotropin (hCG), trofoblast ve üreme hücresi kanserinin tanısında, kalsitonin (CT), tiroid kanserinin tanısında ve prostatik asit fosfataz (PAP), prostat

kanserinin tanısında kullanılan tümör işaretleyicileri arasında yer almaktadır. Bunlara ek olarak kanser tanısında kullanılan diğer tümör işaretleyicileri arasında ferritin, kazein, alkalen fosfataz, laktat dehidrogenaz, aldolaz, ribonükleaz, alfa1- antitripsin bulunmaktadır (Anderson ve Bonomi 1986 , Murray 1988). Serum amilaz düzeyi pankreas kanserli hastaların % 25' inde yüksek bulunmaktadır. Holland, ribonükleaz enziminin pankreas kanserli hastaların % 90' ında ve pankreatik hastaların % 10' unda artış gösterdiğini belirtmektedir. Fitzgerald ve ark.ları, bu konuda yaptıkları çalışmalarda pankreas kanserli hastaların % 50' sinde, kanserli olmayan pankreatik hastaların ise % 35' inde bu enzimin yükseldiğini göstermişlerdir (Statland ve Winkel 1989).

Bazı kimyasal karsinojenler Tablo 2.7' de gösterilmektedir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (benzopiren, dimetilbenzantresen), aromatik aminler (2- asetilaminofluoren, N-metil-4-aminoazobenzen), değişik ilaçlar (alkile edici ajanlar, dietilstilbestrol), inorganik bileşikler (daktinomisin, aflatoksin B₁) kimyasal karsinojenler arasında yer almaktadır (Murray 1988).

Virüslerin kanser oluşumuna neden olduğu ilk defa 1908' de Ellerman ve Bang tarafından ortaya çıkarılmıştır (Aykan ve ark. 1987). Bu virüsler DNA ve RNA virüsleri olarak sınıflandırılmaktadır. DNA virüsleri arasında papovavirüs, adenovirüs, herpesvirüs, hepadnavirüs (hepatit B virüsü) yer almaktadır. C tip RNA virüsü ise memelilerde lösemiye neden olmaktadır (Frei ve Bodey 1974, Murray 1988).

Tablo 2.7. Bazı kimyasal karsinojenler.

Sınıf	Bileşikler
Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	Benzopiren, dimetilbenzantresen
Aromatik aminler	2- asetilaminofluoren N- metil-4- amino- benzen(MAB)
Nitrosaminler	Dimetilnitrozamin, dietilnitrozamin
Değişik ilaçlar	Alkile edici ajanlar, dietilstilbestrol
Doğal bileşikler	Daktinomisin, aflatoksin B ₁
İnorganik bileşikler	Arsenik, asbest kadmiyum, berilyum, krom

İnsan ve hayvanlarda immunité ile kanser arasında bir ilişki bulunmaktadır. İmmun yetmezliği olan kişilerde ve immün sistemi baskılayıcı tedavi alanlarda kötü huylu tümörler daha sık gelişmektedir (Aykan ve ark. 1987).

Biyolojik sıvılarda ve tümörlerde, değişik kanser gruplarında yapılan çalışmalar sonunda yüksek ADA aktivitesi alınmakta olup kemoterapi sonunda ADA aktivitesinin düştüğü gözlenmektedir. T hücre lösemili hastalarda serum ADA aktivitesi yüksek bulunmaktadır (Balis 1985, Koizumi ve Ohkawara 1992, Namiot et al. 1994). Gastrik kanserli hastalarda gastrik sıvısında ADA aktivitesi kontrollerden daha

yüksek görülmektedir (Namiot et al. 1994). Kanserli hücrelerde küçük boy ADA izoenzimi artmaktadır. İnsan kolon tümörleri ve normal kolonik mukozal hücrelerde yapılan çalışmalarda kolon tümörlerinde ADA aktivitesinin normal mukozaya göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (Trotta ve Balis 1978, Sanfilippo et al. 1994). Cilt kanserinde ve beyin tümörlü hastalarda serum ADA aktivitesinde kontrollere göre bir değişim gözlenmemektedir (Koizumi ve Ohkawara 1992, Donma ve Donma 1996).



BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örneklerin Sağlanması

Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarına gelen kanlar serum , plazma ve eritrosit elde edilmek amacıyla alınmıştır. Analiz için gelen vücut sıvılarından BOS , idrar , tükürük , plevra, periton ve eklem sıvıları sağlanmıştır. Ayrıca Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesinde farklı kliniklerde yatmakta olan farklı tanı konmuş ve yaş ortalaması 40 - 70 arasında değişen 20 kanserli (10 kadın, 10 erkek) hastanın kanları plazma ve eritrosit elde edilmek üzere kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak yine aynı laboratuvara gelen ve yaş ortalaması 19 - 65 arasında değişen, klinik ve laboratuvar bulguları bakımından sağlıklı görünen 42 kişinin (21 kadın, 21 erkek) kanları plazma ve eritrosit elde edilmek üzere alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan Aletler

Çalışmamızda aşağıdaki aletler kullanılmıştır :

Isıtıcıli manyetik karıştırıcı	IKA-RH
Santrifüj	Hermle Z-320
Otomatik pipetler	Socorex
Vorteks karıştırıcı	IKA-VF 2

Hassas terazi	Sartorius
Su banyosu	Nüve BM 402
Visible spektrofotometre	Spectronic 20D
Derin dondurucu (-20°C)	Arçelik
Soğutucu	Arçelik
pH Metre	Hanna

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda aşağıdaki kimyasal maddeler kullanılmıştır :

Madde Adı	Formülü	Mol.Ağırlığı	Firma
Adenozin hemisulfat	$C_{10}H_{13}N_5O_4 \cdot SO_4$	316.3	Sigma
Deoksiadenozin	$C_{10}H_{13}N_5O_3 \cdot H_2O$	296.26	Fluka
Disodyum hidrojen fosfat	$Na_2HPO_4 \cdot H_2O$	177.99	Merck
Potasyum dihidrojen fosfat	KH_2PO_4	136.09	Merck
Fenol	C_6H_6O	94.11	Merck
Sodyum nitroprussid	$Na_2[Fe(CN_5)NO] \cdot 2H_2O$	297.95	Merck
Sodyum hipoklorit	$NaOCl$	74.5	Çamaşır suyu

Amonyum sülfat	$(NH_4)_2SO_4$	132.14	Merck
Mangan II klorür	$MnCl_2 \cdot 2H_2O$	161.87	Merck
Sodyum klorür	NaCl	58.44	Merck
Sodyum hidroksit	NaOH	40.00	Merck

3.2.Yöntemler

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

3.2.1.1. Hemolizat Hazırlanması

10 ml venöz kan heparinli santrifüj tüpü içine alınıp 5 dakika 2000 RPM de santrifüj edilmiştir ve üst kısımda yer alan plazma dikkatlice alınarak ADA aktivite düzeyi çalışmak için kullanım anına kadar $-20^{\circ}C$ de saklanmıştır. Plazma çalışma sırasında direkt olarak kullanılmıştır. Eritrositler üç kez soğuk serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ile yıkandıktan sonra 2.5 mM $MnCl_2$ ile orjinal hacme kadar tamamlanmıştır. $MnCl_2$ içeren çözelti ile hemolizat elde edilmiştir. Hazırlanan hemolizatlar kullanma anına kadar $-20^{\circ}C$ de saklanmıştır ve çalışma sırasında 1/10 oranında serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ile sulandırılmıştır.

3.2.1.2. Serum Ve Diğer Kullanılan Vücut Sıvılarının Hazırlanması

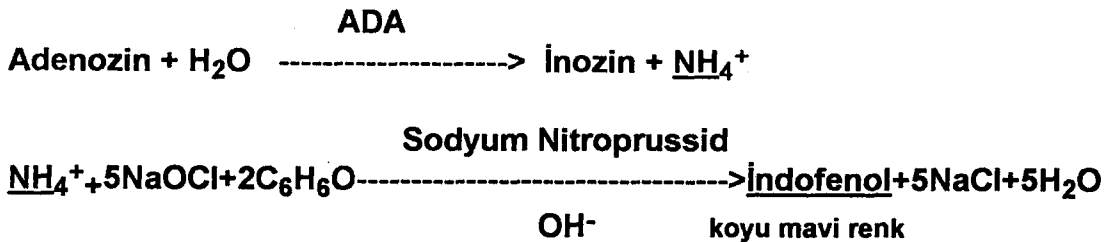
Serum hazırlarken 5 mL venöz kan antikoagulant içermeyen bir santrifüj tüpü içine alınıp 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 5 dakika 2000 RPM de santrifüj edilmiştir. Eritrositlerinden ayrılan serum dikkatlice alınıp, diğer vücut sıvılarında olduğu gibi kullanma anına kadar -20°C de saklanmıştır. ADA aktivite düzeyini ölçmede kullanılan serum ve diğer vücut sıvıları sulandırılmadan direkt olarak çalışılmıştır.

3.2.2. ADA Aktivite Düzeyi Ölçüm Yöntemi (GIUSTI)

Giusti yöntemi kullanılarak serum , plazma , eritrosit ve diğer vücut sıvılarında ADA aktivite düzeyi ölçülmüştür (Giusti, 1974).

3.2.2.1. İlke

Giusti yöntemi , ADA aktivite düzeyi ölçümü için substrat olarak adenzin kullanılarak, elde edilen amonyum iyonunun sodyum hipoklorit ve fenol / nitroprussid ile birlikte alkali solüsyonunda koyu mavi indofenol şekline alması ilkesine dayanan Berthelot yönteminin modifiye şekli olarak tanımlanmıştır. Sodyum nitroprussid katalizör olarak kullanılmış ve NH_4 konsantrasyonunun değişimiyle orantılı olarak indofenol oluşumu da (mavi rengin şiddeti) değişmiştir (Giusti, 1974).



3.2.2.2. Ayıraçlar

a) Adenozin Hemisülfat Çözeltisi (12 mM / L) :

Adenozin Hemisülfat	0.0379 g
Fosfat Tamponu (PH=6.5)	10 mL

0.0379 g adenozin hemisülfat 10 mL fosfat tamponunda 60°C de çözülmüştür ve günlük olarak hazırlanmıştır.

b) Fosfat Tamponu (50 mM , pH=6.5) :

KH_2PO_4	6.80 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8.89 g
Distile su	1000 mL

6.80 g potasyum dihidrojen fosfat ve 8.89 g disodyum hidrojen fosfat distile suda çözümlenerek son hacim 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti koyu renkli şişede 0-4°C de 2 ay saklanabilmektedir.

c) Stok Amonyum Sülfat Çözeltisi (15 mM) :

Amonyum Sülfat	0.198 g
Distile su	100 mL

0.198 g amonyum sülfat distile suda çözümlenerek son hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti koyu renkli şişede 0-4°C de 1 ay saklanabilmektedir.

d) Günlük Amonyum Sülfat Standart Çözeltisi (75 uM) :

Stok Amonyum Sülfat	0.5 mL
Distile su	100 mL

0.5 mL stok amonyum sülfat çözeltisi distile su ile 100mL' ye tamamlanmıştır.

e) Fenol / nitroprussid Çözeltisi (106 mM fenol , 0.17 mM sodyum nitroprussid) :

Fenol	5 g
Sodyum Nitroprussid	0.025 g
Distile su	500 mL

5 g fenol ve 0.025 g sodyum nitroprussid bir miktar distile suda çözülmüş ve son hacim 500 mL' ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti koyu renkli bir şişede 0-4°C de 2 ay saklanabilmektedir.

f) Alkali Hipoklorit Çözeltisi (11 mM NaOCl , 125 mM NaOH):

1 N NaOH	62.5 mL
NaOCl	8.2 mL
Distile su	500 mL

62.5 mL 1N NaOH ve 8.2 mL NaOCl distile su ile 500 mL' ye tamamlanmıştır. Elde edilen çözelti 0-4°C de ve renksiz bir şişede 2 ay saklanabilmektedir.

g) Mangan II Klorür Çözeltisi ($MnCl_2$) (2.5 mM) :

$MnCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.2 g

Distile Su 500 mL

0.2 g $MnCl_2 \cdot 2H_2O$ bir miktar distile suda çözülerek son hacim 500 mL' ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti renksiz şişede saklanabilmektedir.

ğ) Sodyum Klorür Çözeltisi (% 0.9 NaCl) :

NaCl 9 g

Distile Su 1000 mL

9 g sodyum klorür (NaCl) bir miktar distile suda çözülerek hacim 1000 mL 'ye tamamlanmıştır.

3.2.2.3. İşlem

Giusti yöntemi kullanılarak vücut sıvılarında ADA aktivite düzeyi ölçümü yapılmıştır. Yapılan işlemler için aşağıdaki tablo düzenlenmiştir (Tablo 3.1)(Giusti, 1974).

ADA aktivite düzeyi ölçümünde kullanılan inkübasyon ortamında (1.0 mL final hacimde) 12 mM adenozin hemisülfat , 50mM fosfat tamponu (pH 6.5), örnek (Kontrol grupları ve kanserli hastalarda örnek olarak plazma kullanılırken, substrat olarak Ade ve dAde kullanarak ADA aktivite düzeylerini bulmak ve her iki sustratla Michaelis Menten eğrisini çizmek amacıyla serum örnekleri alınmıştır) ve standart bulunmaktadır.

Tablo 3.1. Giusti yöntemi ile ADA aktivite düzeyinin ölçümü.

<u>Ayıraçlar</u>	<u>Ayıraç Körü</u>	<u>Standart</u>	<u>Substrat Körü</u>	<u>Örnek Körü</u>	<u>Örnek</u>
50mM Fosfat tamponu (mL)	0.95	—	—	0.95	—
12mM Adenozin hemisülfat (mL)	—	—	0.95	—	0.95
75µM Amonyum sülfat standart (mL)	—	0.95	—	—	—
Örnek (mL)	—	—	—	0.05	0.05
Distile su (mL)	0.05	0.05	0.05	—	—

Tüplerin ağzı parafilmle kapatılıp , vorteks ile karıştırılmış ve 60 dakika 37°C su banyosunda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplere fenol / nitroprussid çözeltisi ve alkali hipoklorit çözeltisi ilave edilmiştir.

Fenol/nitroprussid (mL)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Alkali hipoklorit (mL)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

15 dakika 37°C su banyosunda tutulduktan sonra su banyosundan alınan tüplerin absorbansı spektrofotometrede 625 nm de suya karşı alınmıştır.

3.2.2.4. Hesap

$$\text{ADA Aktivite Düzeyi} = \frac{\text{B} - \text{C}}{\text{A}} \times \text{Kalibrasyon Faktörü}$$

A (Gerçek std. absorbans değeri) = Standart absorbans değeri - Ayıraç körü absorbans değeri.

B(Gerçek örnek absorbans değeri) = Örnek absorbans değeri - Örnek körü absorbans değeri.

C=Substrat körü absorbans değeri - Ayıraç körü absorbans değeri.

Kalibrasyon Faktörü = [(Toplam hacim / Örnek hacim) x standart konsantrasyonu] / İnkübasyon süresi

$$\text{Kalibrasyon Faktörü} = [(1 / 0.05) \times 75 \times 2] / 60$$

$$\text{Kalibrasyon Faktörü} = 50$$

A değeri genellikle 0.47 olarak bulunmuş ve ADA aktivite düzeyi ;

$$\text{ADA Aktivite Düzeyi} = (\text{B} - \text{C}) \times (50 / 0.47)$$

$$\text{ADA Aktivite Düzeyi} = (\text{B} - \text{C}) \times 106$$

olarak verilmiştir.

3.2.2.4.1. Eritrosit İçin

Eritrositler için aktivite düzeyi nmol / saat- mgHb olarak verilmiştir.

Hb düzeyi , Sysmex K - 1000 ile ölçülmüştür.

3.2.2.4.2. Diğerleri

Serum ve diğer vücut sıvılarında aktivite tanımı , 1 µmol substratı 37°C de ve 1 dakikada değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim Ü / L olarak tanımlanmıştır.

3.2.3. Substrat Olarak Adenozin Hemisülfat Yerine 2' - Deoksiadenozin Kullanılması

3.2.3.1. Ayıraç

2' - Deoksiadenozin Çözeltisi (12 mM / L) :

2' - Deoksiadenozin	0.0323 g
Fosfat tamponu	10 mL

10 mL fosfat tamponunda 0.0323 g 2' - deoksiadenozin 60°C de çözülmüş ve çözelti günlük olarak hazırlanmıştır.

3.2.3.2. İşlem

Substrat olarak adenozin hemisülfat yerine 2' - deoksiadenozin kullanıldığında ADA aktivite düzeyinin ölçüm işlemi Tablo 3.1' de gösterildiği şekilde yapılmıştır.



BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Dalga Boyu Taraması

ADA aktivite düzeyinin saptanmasında Giusti yönteminden yararlanılmıştır. Giusti yöntemine göre, ADA tarafından adenozinden açığa çıkan amonyum iyonu, alkali ortamda fenol hipoklorit ile indofenol oluşturmaktadır. Çalışmamızda oluşan indofenolün absorbansları 620 - 625 - 630 nm dalga boylarında ölçülmüştür. En yüksek aktivite 625 nm de elde edildiği için çalışmamızda 625 nm dalga boyu kullanılmıştır.

4.2. Serum - Plazma ADA Aktivite Düzeyleri

Serum ve plazma ADA aktivite düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemek için aynı kişilerden elde edilen plazma - serum ADA aktivite düzeyleri ölçülmüştür (Tablo 4.1) .

Tablo 4.1: Serum ve plazma ADA aktivite düzeyleri (Ü/L).

Serum ADA	Plazma ADA
14.8 ± 4.0	14.8 ± 4.1
(n : 10)	(n : 10)

Tablo 4.1' de görüldüğü gibi serum ADA aktivite düzeyleri (Ü/L) 14.8 ± 4.0 (n:10) bulunurken , plazma ADA aktivite düzeyleri (Ü/L) 14.8 ± 4.1 (n:10) olarak saptanmıştır. Kontrol grupları ve kanserli hastalarda örnek olarak plazma kullanılmasına rağmen, serum ve plazma ADA aktivite düzeyleri arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık bulunmadığı için ve diğer parametrelerle birlikte kullanırken uyum göstermesi amacıyla, tablolarımızda plazma ADA yerine serum ADA ifadesi kullanılmıştır.

4.3. Stabilite

Stabilite üzerine yaptığımız çalışmalarda serum ADA aktivite düzeyinin -8°C ve -20°C de bir yıl, $+4^{\circ}\text{C}$ de ise iki gün aktivitesi değişmeden kaldığı bulunmuştur. $+4^{\circ}\text{C}$ de saklanan serumların iki gün sonra aktivitelerini % 15 oranında kaybettikleri saptanmıştır. Ayrıca ADA aktivite düzeyini ölçmede kullandığımız örneklerin (-8°C ve -20°C de saklanan) bir defa dondurulup çözülmesi ile aktivite kaybı olmadığı, iki defa dondurulup çözülmesi ile ise % 15 aktivite kaybı olduğu görülmüştür.

4.4. Kontrol ve Kanserli Grup Serum ve Eritrosit ADA Aktivite Düzeyleri

Kanserli grubu oluşturan hastaların kanser türleri Tablo 4.2' de verilmiştir.

Tablo 4.2: Kanserli gruptaki hastaların kanser türleri.

Kanser Türü	Kadın	Erkek
Mide Kanseri	2	–
Pankreas Kanseri	–	1
Böbrek Kanseri	2	1
*Renal cell	2	
*Diğerleri		1
Akciğer Kanseri	–	7
*Epidermoid	–	1
*Skuamöz hücreli	–	1
*Diğerleri	–	5
Meme Kanseri	1	–
Tiroid Kanseri	2	–
Beyin Kanseri	3	1
TOPLAM	10	10

Kontrol ve kanserli grup serum ve eritrosit ADA aktivite düzeyleri Tablo 4.3' de verilmiştir. Bu tabloya göre kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum ADA aktivite düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 15.0 ± 2.4 (n:21), 15.2 ± 2.2 (n:21), 15.1 ± 2.3 (n:42) bulunurken, kanserli

hastalarda kadın, erkek, toplam grup serum ADA aktivite düzeyleri sırasıyla 25.1 ± 7.8 (n:10), 20.9 ± 4.8 (n:10), 23.0 ± 6.7 (n:20) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda kadın, erkek, toplam grup serum ADA aktivite düzeyleri (Ü/L) kontrollere oranla anlamlı bir farklılık göstermiştir ($p < 0.001$). Bu farklılık artma yönündedir. Kanserli hastalarda serum ADA aktivite düzeylerinde cinsiyete bağlı olarak sayısal olarak bir farklılık gözlenmesine karşın istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiştir.

Tablo 4.3: Kontrol ve kanserli grup serum ve eritrosit ADA aktivite düzeyleri.

Analiz	GRUPLAR		
	Kontrol	Kanser	
Serum ADA aktivite düzeyi (Ü/L)	K	15.0 ± 2.4 (n:21)	$25.1 \pm 7.8^*$ (n:10)
	E	15.2 ± 2.2 (n:21)	$20.9 \pm 4.8^*$ (n:10)
	T	15.1 ± 2.3 (n:42)	$23.0 \pm 6.7^*$ (n:20)
Eritrosit ADA aktivite düzeyi (nmol/saat- mgHb)	K	66.7 ± 17.8 (n:21)	65.6 ± 26.1 (n:10)
	E	65.2 ± 18.0 (n:21)	69.5 ± 15.9 (n:10)
	T	65.9 ± 17.7 (n:42)	68.6 ± 23.3 (n:20)

* $p < 0.001$, K : Kadın, E : Erkek, T : Toplam

Kontrol ve kanserli gruplarda ölçtüğümüz eritrosit ADA aktivite düzeyleri ile ilgili çalışmamızda ise kontrol kadın, erkek, toplam grup eritrosit ADA aktivite düzeyleri (nmol / saat- mgHb) sırasıyla 66.7 ± 17.8 (n:21), 65.2 ± 18.0 (n:21), 65.9 ± 17.7 (n:42) bulunurken, kanserli hastalarda kadın, erkek, toplam grup eritrosit ADA aktivite düzeyleri (nmol / saat- mgHb) sırasıyla 65.6 ± 26.1 (n:10), 69.5 ± 15.9 (n:10), 68.6 ± 23.3 (n:20) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda eritrosit ADA aktivite düzeyleri kontrollere oranla anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Tablo 4.3) .

Ayrıca kontrol ve kanserli gruplarda eritrosit ADA aktivite düzeylerinde cinsiyete bağlı bir değişim saptanamamıştır.

4.5. Kontrol ve Kanserli Grup Serum Ürik Asit, Total Protein ve Albumin Düzeyleri

Kontrol ve kanserli grup serum ürik asit, total protein ve albumin düzeyleri Tablo 4.4' de gösterilmiştir.

Tablo 4.4 : Kontrol ve kanserli grup serum ürik asit, total protein ve albumin düzeyleri.

Analiz	GRUPLAR		
	Kontrol		Kanser
Serum Ürik Asit düzeyi (mg/dL)	K	3.9 ± 0.5 (n:8)	5.3 ± 1.4** (n:9)
	E	5.6 ± 0.9 (n:9)	4.3 ± 1.5** (n:9)
	T	4.8 ± 1.1 (n:17)	4.7 ± 1.5 (n:18)
Serum Total Protein düzeyi (g/dL)	K	7.0 ± 0.5 (n:13)	6.7 ± 0.9 (n:10)
	E	7.4 ± 0.4 (n:11)	6.9 ± 0.4* (n:9)
	T	7.2 ± 0.5 (n:24)	6.8 ± 0.7** (n:19)
Serum Albumin düzeyi (g/dL)	K	4.5 ± 0.3 (n:13)	3.8 ± 0.6* (n:10)
	E	4.8 ± 0.5 (n:11)	3.5 ± 0.6* (n:9)
	T	4.6 ± 0.4 (n:24)	3.6 ± 0.6* (n:19)

* p<0.001

** p<0.05

Kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum ürik asit düzeyleri (mg/dL) sırasıyla 3.9 ± 0.5 (n:8), 5.6 ± 0.9 (n:9) ve 4.8 ± 1.1 (n:17) bulunurken, kanserli kadın, erkek ve toplam grup serum ürik asit düzeyleri (mg/dL) sırasıyla 5.3 ± 1.4 (n:9), 4.3 ± 1.5 (n:9) ve 4.7 ± 1.5 (n:18) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda kadın ve erkek grup

serum ürik asit düzeyleri kontrollere oranla önemli bir farklılık göstermiş olup ($p<0.05$), kanserli toplam grupta kontrollere oranla önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubunda serum ürik asit düzeylerinde kadınlarda erkeklere oranla anlamlı bir düşme bulunmuş ($p<0.001$), kanserli hastalarda cinsiyete bağlı önemli bir değişme saptanmamıştır (Tablo 4.4).

Serum total protein düzeyleri incelendiğinde, kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum total protein düzeyleri (g /dL) sırasıyla 7.0 ± 0.5 (n:13), 7.4 ± 0.4 (n:11) ve 7.2 ± 0.5 (n:24) bulunurken, kanserli kadın, erkek ve toplam grup serum total protein düzeyleri (g /dL) sırasıyla 6.7 ± 0.9 (n:10), 6.9 ± 0.4 (n:9) ve 6.8 ± 0.7 (n:19) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda erkek ve toplam grup serum total protein düzeyleri kontrollere oranla önemli bir düşme göstermiş olup ($p<0.05$), kanserli kadınlarda kontrollere oranla önemli bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4.4). Kontrol grubunda serum total protein düzeylerinde kadınlarda erkeklere oranla önemli bir düşme bulunmuş ($p<0.05$), kanserli hastalarda cinsiyete bağlı bir değişme saptanmamıştır .

Kontrol kadın, erkek, toplam grup serum albumin düzeyleri (g /dL) sırasıyla 4.5 ± 0.3 (n:13), 4.8 ± 0.5 (n:11) ve 4.6 ± 0.4 (n:24) bulunurken, kanserli kadın, erkek ve toplam grup serum albumin düzeyleri (g /dL) sırasıyla 3.8 ± 0.6 (n:10), 3.5 ± 0.6 (n:9) ve 3.6 ± 0.6 (n:19) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda serum albumin düzeyleri kontrollere oranla anlamlı bir düşme göstermiştir ($p<0.001$) (Tablo 4.4). Kontrol gruplarında serum albumin düzeylerinde kadınlarda erkeklere oranla bir önemli bir düşme bulunmuş olup ($p<0.05$), kanserli hastalarda cinsiyete bağlı bir değişme saptanmamıştır.

4.6. Kontrol ve Kanserli Grup Serum Alkalen Fosfataz, Laktat Dehidrogenaz, Alanin Aminotransferaz ve Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri

Kontrol ve kanserli grup serum alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri Tablo 4.5' te verilmiştir.

Tablo 4.5: Kontrol ve kanserli grup serum ALP, LDH, ALT ve AST düzeyleri.

Analiz	GRUPLAR	
	Kontrol	Kanser
Serum ALP düzeyi (Ü/L)	K 54.8 ± 17.9 (n:11)	78.1 ± 33.6 (n:10)
	E 72.3 ± 29.6 (n:9)	84.0 ± 20.2 (n:8)
	T 62.7 ± 24.9 (n:20)	80.7 ± 27 (n:18)
Serum LDH düzeyi (Ü/L)	K 143.9 ± 39.3 (n:9)	152.2 ± 46.2 (n:9)
	E 145.9 ± 17.6 (n:7)	161.7 ± 58.2 (n:9)
	T 144.8 ± 30.8 (n:16)	156.9 ± 51.2 (n:18)
Serum ALT düzeyi (Ü/L)	K 24.8 ± 11.9 (n:12)	24.3 ± 7.6 (n:10)
	E 29.3 ± 13.8 (n:10)	25.6 ± 17.6 (n:9)
	T 26.8 ± 12.7 (n:22)	24.9 ± 12.9 (n:19)
Serum AST düzeyi (Ü/L)	K 27.6 ± 7.0 (n:12)	34.7 ± 11.6 (n:10)
	E 30.9 ± 10.5 (n:10)	35.1 ± 17.7 (n:9)
	T 27.7 ± 7.2 (n:22)	34.9 ± 14.4* (n:19)

* p < 0.05

Tablo 4.5' te görüldüğü gibi, kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum ALP düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 54.8 ± 17.9 (n:11), 72.3 ± 29.6 (n:9) ve 62.7 ± 24.9 (n:20) bulunurken, kanserli kadın, erkek ve toplam grup serum ALP düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 78.1 ± 33.6 (n:10), 84.0 ± 20.2 (n:8) ve 80.7 ± 27.8 (n:18) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda serum ALP düzeylerinde sayısal olarak bir farklılık gözlenmesine karşın, kontrollere oranla istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermemiştir. Ayrıca kontrol ve kanserli gruplarda serum ALP düzeylerinde cinsiyete bağlı anlamlı bir değişme saptanmamıştır.

Serum LDH düzeyleri incelendiğinde, kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum LDH düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 143.9 ± 39.3 (n:9), 145.9 ± 17.6 (n:7) ve 144.8 ± 30.8 (n:16) bulunurken, kanserli kadın, erkek ve toplam grup serum LDH düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 152.2 ± 46.2 (n:9), 161.7 ± 58.2 (n:9) ve 156.9 ± 51.2 (n:18) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda serum LDH düzeyleri kontrollere oranla anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Tablo 4.5).

Serum ALT düzeyleri incelendiğinde, kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum ALT düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 24.8 ± 11.9 (n:12), 29.3 ± 13.8 (n:10) ve 26.8 ± 12.7 (n:22) bulunurken, kanserli kadın, erkek ve toplam grup serum ALT düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 24.3 ± 7.6 (n:10), 25.6 ± 17.6 (n:9) ve 24.9 ± 12.9 (n:19) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda serum ALT düzeyleri kontrollere oranla anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Tablo 4.5).

Serum AST düzeyleri incelendiğinde, kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum AST düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 27.6 ± 7.0 (n:12), 30.9 ± 10.5 (n:10) ve 27.7 ± 7.2 (n:22) bulunurken, kanserli hastalarda kadın, erkek ve toplam grup serum AST düzeyleri (Ü/L) sırasıyla

34.7 ± 11.6 (n:10), 35.1 ± 17.7 (n:9) ve 34.9 ± 14.4 (n:19) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda toplam grup serum AST düzeyleri kontrollere oranla anlamlı bir artış gösterirken (p<0.05), kanserli kadın ve erkek grup serum AST düzeylerinde kontrollere oranla anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Tablo 4.5).

4.7. Kontrol ve Kanserli Gruplarda Serum ADA Aktivite Düzeyleri ile Diğer Biyokimyasal Parametre Düzeyleri Arasındaki İlişkiler

Kontrol ve kanserli gruplarda serum ADA aktivite düzeyleri ile serum total protein, albumin (Alb), ürik asit ve alkalen fosfataz (ALP) düzeyleri arasındaki ilişki Tablo 4.6 ' da verilmiştir.

Tablo 4.6 : Kontrol ve kanserli gruplarda bazı biyokimyasal parametrelere ait varyans analizleri.

Parametre çifti	GRUPLAR	
	Kontrol	Kanser
Serum ADA- T.Protein	n	24
	r	-0.36
	p	0.075
Serum ADA- Alb.	n	24
	r	-0.13
	p	0.545
Serum ADA- Ürik Asit	n	17
	r	-0.32
	p	0.217
Serum ADA- ALP	n	20
	r	-0.13
	p	0.580

Kontrol gruplarında serum ADA aktivite ve serum total protein düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=-0.36$, $p=0.075$, $n=24$, kontrol serum ADA aktivite ve kontrol serum albumin düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=-0.13$, $p=0.545$, $n=24$, kontrol serum ADA aktivite ve kontrol serum ürik asit düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=-0.32$, $p=0.217$, $n=17$ ve kontrol serum ADA aktivite ve kontrol serum alkalin fosfataz düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=-0.13$, $p=0.580$, $n=20$ olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda serum ADA aktivite düzeyleri ile serum total protein, albumin, ürik asit ve alkalin fosfataz düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (Tablo 4.6).

Kanserli hasta gruplarında serum ADA aktivite ve serum total protein düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=0.36$, $p=0.126$, $n=19$, serum ADA aktivite ve serum albumin düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=0.22$, $p=0.365$, $n=19$, serum ADA aktivite ve serum ürik asit düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=-0.13$, $p=0.584$, $n=18$, serum ADA aktivite ve serum alkalin fosfataz düzeyleri arasındaki korelasyon sabiti $r=0.12$, $p=0.623$, $n=18$ olarak saptanmıştır. Kanserli gruplarda serum ADA aktivite düzeyleri ile serum total protein, serum albumin, serum ürik asit ve serum alkalin fosfataz düzeyleri arasında da anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır (Tablo 4.6).

4.8. Serum ADA Aktivite Düzeylerinin Yaşa Bağlı Değişimi

Serum ADA aktivite düzeylerinin yaşla değişimi Tablo 4.7 ' de verilmiştir.

Tablo 4.7: Serum ADA aktivite düzeylerinin yaşa bağlı değişimi.

Yaş	GRUPLAR		
	Kontrol		Kanser
19-39	K	15.3 ± 2.1 (n:8)	—
	E	15.2 ± 1.8 (n:13)	—
	T	15.2 ± 1.9 (n:21)	—
39 I	K	15.0 ± 2.7 (n:13)	25.1 ± 7.9* (n:10)
	E	15.1 ± 2.9 (n:8)	20.9 ± 4.8* (n:10)
	T	15.0 ± 2.7 (n:21)	23.0 ± 6.7* (n:20)

* p < 0.001

Kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum ADA aktivite düzeylerinin yaşla değişimini incelemek için 19-39 yaş ile 39 üzerindeki yaş olmak üzere iki farklı grup oluşturulmuştur. Buna göre 19-39 yaş grubu kontrol kadın, erkek ve toplam grup serum ADA aktivite düzeyleri (Ü/L) sırasıyla 15.3 ± 2.1 (n:8), 15.2 ± 1.8 (n:13) ve 15.2 ± 1.9 (n:21) bulunurken, 39 yaşın üzerindeki kontrol grubunda da bu değerler sırasıyla 15.0 ± 2.7 (n:13), 15.1 ± 2.9 (n:8) ve 15.0 ± 2.7 (n:21) olarak bulunmuştur. Kontrol gruplarında serum ADA aktivite düzeylerinde yaşa bağlı değişimi gözlenmemiştir (Tablo 4.7).

Kanserli hasta gruplarında 39 yaşın üzerindeki kadın, erkek ve toplam grup serum ADA aktivite düzeyleri (Ü/L) sırasıyla

25.1 ± 7.9 (n:10), 20.9 ± 4.8 (n:10) ve 23.0 ± 6.7 (n:20) olarak bulunmuştur. 39 yaşın üzerindeki kanserli hastalar kontrollere oranla önemli bir farklılık göstermiştir (p < 0.001) (Tablo 4.7). Kanserli grubu oluşturan hastalarda 19-39 yaş grubunda olgu bulunmadığı için yaş faktöründen etkilenme hakkında fikir edinilememiştir.

4.9. İnsan Vücut Sıvılarında ADA Aktivite Düzeyleri

Değişik insan vücut sıvılarında elde edilen ADA aktivite düzeyleri Tablo 4.8' de verilmiştir.

Tablo 4.8: İnsan vücut sıvılarında ADA aktivite düzeyleri.

Vücut Sıvıları	ADA (Ü/L)
BOS	9.5 ± 2.6 (n:6)
Plevra Sıvısı	12.6 ± 3.8 (n:6)
Periton Sıvısı	38.8 ± 35.5 (n:4)
Eklem Sıvısı	11 (n:1)
Tükürük	—
İdrar	—

Bu çalışmamızda serum, plazma ve eritrosit dışında diğer insan vücut sıvılarında ADA aktivite düzeyleri incelenmiştir. İnsan

vücut sıvıları içinde BOS ADA aktivite düzeyi (Ü/L) 9.5 ± 2.6 (n:6), plevra sıvısı ADA aktivite düzeyi (Ü/L) 12.6 ± 3.8 (n:6), periton sıvısı ADA aktivite düzeyi (Ü/L) 38.8 ± 35.5 (n:4) ve eklem sıvısı ADA aktivite düzeyi (Ü/L) 11 (n:1) olarak bulunurken, tükürük ve idrarda ADA enzim aktivitesi saptanamamıştır (Tablo 4.8).

4.10. Substrat Olarak Adenozin (Ade) Yerine 2'-Deoksiadenozin (d-Ade) Kullanıldığında Elde Edilen ADA Aktivite Düzeyleri

Substrat olarak adenozin (Ade) ve 2'-deoksiadenozin (d-Ade) kullanarak bulduğumuz ADA aktivite düzeyleri Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9: Substrat olarak Ade ve d-Ade kullanarak bulunan ADA aktivite düzeyleri.

Enzim Kaynakları	Ade	d-Ade
	ADA	
Serum (Ü/L)	14.0 ± 2.4 (n:5)	8.2 ± 1.6 (n:5)
Eritrosit (nmol /saat- mgHb)	54.0 ± 14.2 (n:5)	33 ± 9.5 (n:5)
Vücut Sıvıları		
BOS (Ü/L)	9.0 ± 2.6 (n:3)	0.1 (n:3)
Plevra sıvısı (Ü/L)	10.4 ± 4.7 (n:5)	2.2 ± 1.3 (n:5)
Periton sıvısı (Ü/L)	23.0 ± 19.9 (n:3)	17.7 ± 22.8 (n:3)
Eklem sıvısı (Ü/L)	*11 (n:1)	*6 (n:1)
Tükürük	—	—
İdrar	—	—

* : Örnek sayısı az olduğu için istatistiksel olarak incelenememiştir.

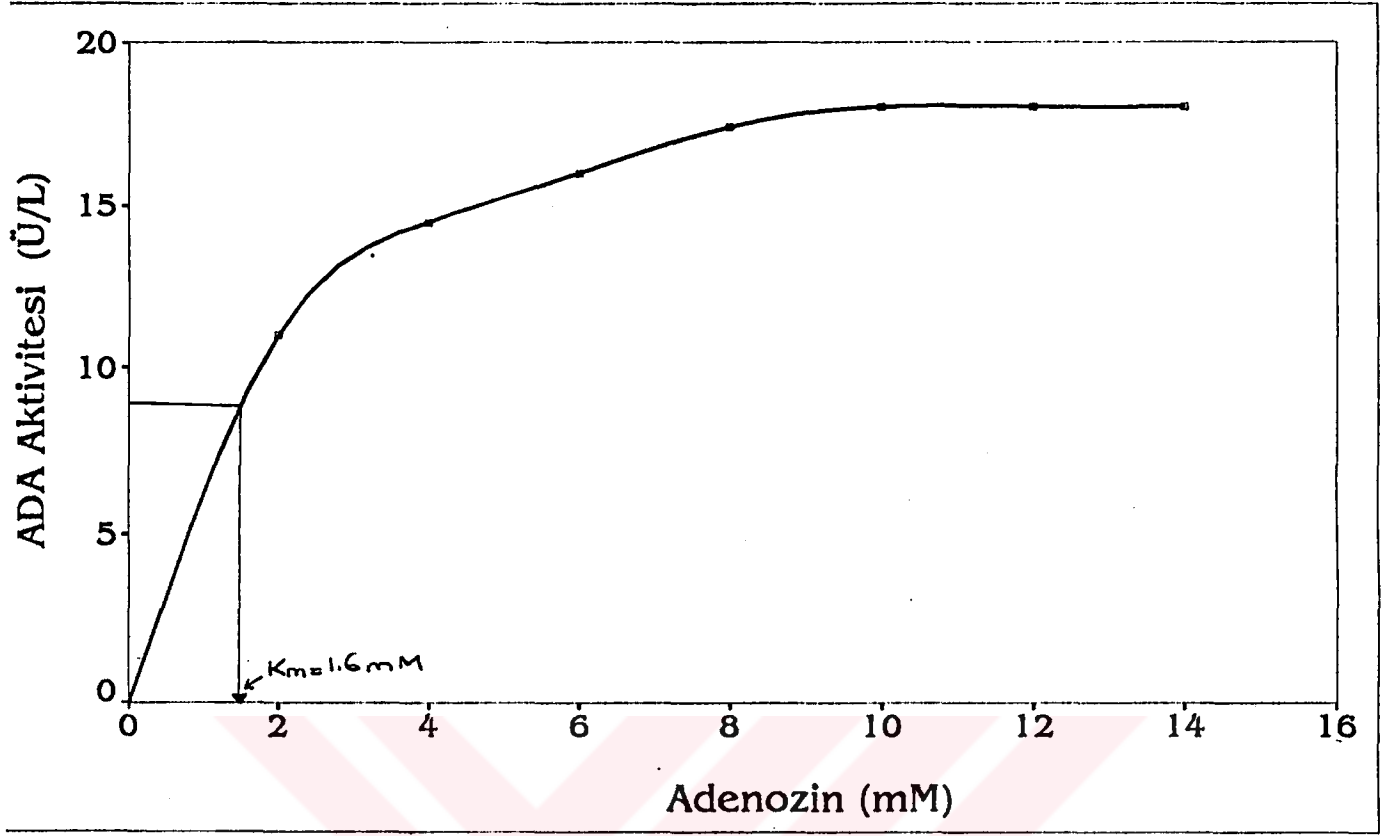
Substrat olarak Ade kullanıldığında serum , eritrosit, BOS, plevra sıvısı, periton sıvısı ve eklem sıvısı ADA aktivite düzeyleri sırasıyla 14.0 ± 2.4 (Ü/L), 54.0 ± 14.2 (nmol / saat- mgHb), 9.0 ± 2.6 (Ü/L), 10.4 ± 4.7 (Ü/L), 23.0 ± 19.9 (Ü/L), 11 (Ü/L) bulunurken, dAde kullanıldığında serum, eritrosit, BOS, plevra sıvısı, periton sıvısı ve eklem sıvısı ADA aktivite düzeyleri sırasıyla 8.2 ± 1.6 (Ü/L), 33.0 ± 9.5 (nmol / saat- mgHb), 0.10 (Ü/L), 2.2 ± 1.3 (Ü/L), 17.7 ± 22.8 (Ü/L), 6 (Ü/L) olarak saptanmıştır (Tablo 4.9).

Tükürük ve idrarda ADA aktivite düzeyi iki substrat ile de saptanamamıştır. Substrat olarak d-Ade kullanıldığında, substrat olarak kullanılan Ade' ye göre serum ADA aktivite düzeyinde % 41.0, eritrosit ADA aktivite düzeyinde % 38.0, BOS ADA aktivite düzeyinde % 98.8, plevra sıvısı ADA aktivite düzeyinde % 78.8, periton sıvısı ADA aktivite düzeyinde % 23.0 azalma gözlenmiştir. Eklem sıvısı ADA aktivite düzeyinde ise % 45.5 azalma gözlenmiştir.

4.11. Serum ADA Enziminin Kinetik Özellikleri

4.11.1. ADA Enziminin Adenozin için Elde Edilen Michaelis Menten Eğrisi

Bu çalışmamızda substrat olarak adenozin kullanılarak Michaelis Menten eğrisi elde edebilmek için, 2 - 16 mM adenozin konsantrasyonlarında serum ADA aktivite düzeyleri ölçülmüştür. Enzim miktarını sabit tutup substrat yoğunluğunu değiştirerek serumda elde ettiğimiz Michaelis Menten eğrisi Şekil 4.1' de verilmiştir.

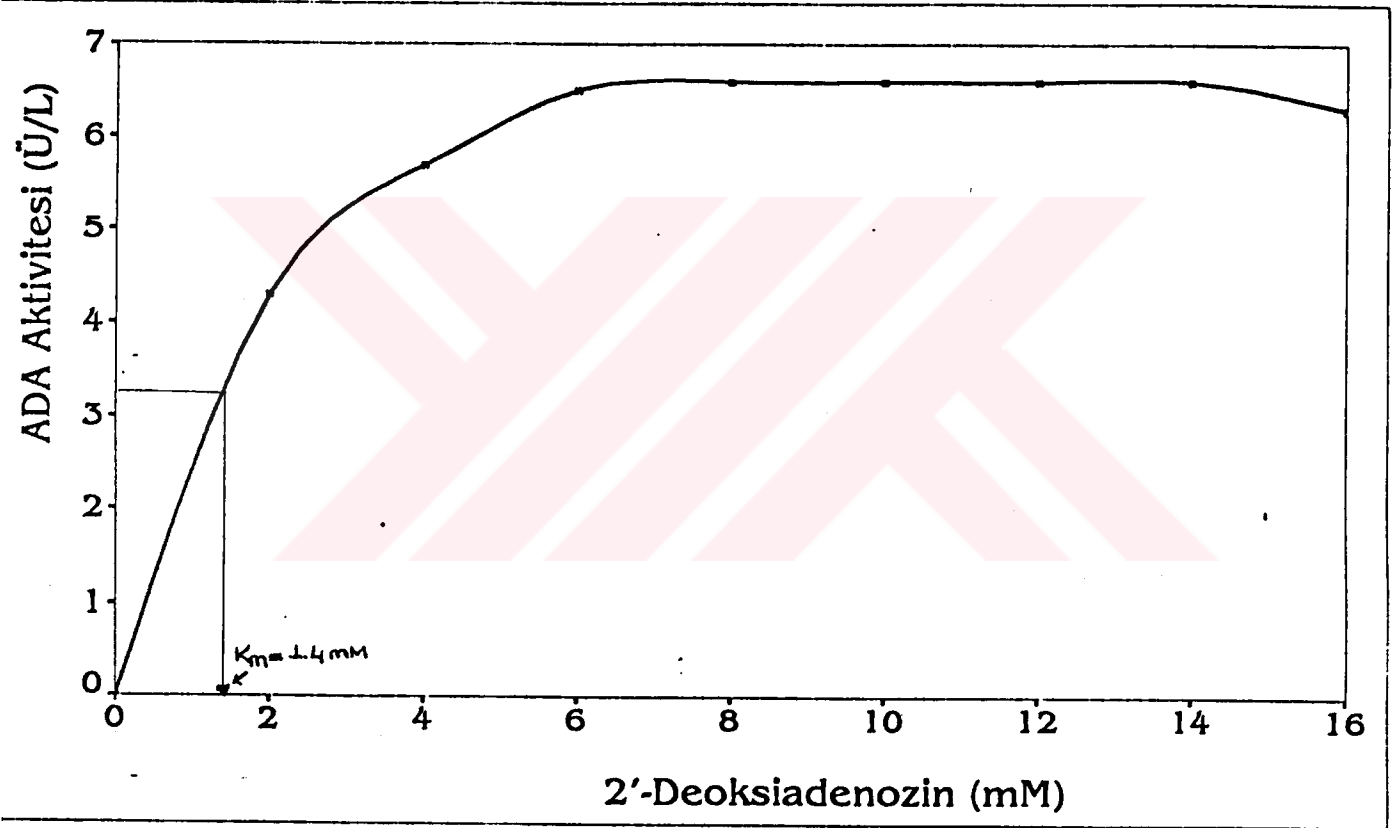


Şekil 4.1 : Serum ADA enzimi Michaelis Menten Eğrisi (Adenozin için).

Michaelis Menten sabiti olan K_m değeri, maksimum hızın yansını ($V_{max} / 2$) sağlayan substrat yoğunluğu olarak tanımlanır. Bizim çalışmamızda K_m değeri adenozin için 1.6 mM olarak bulunmuştur (Şekil 4.1).

4.11.2. ADA Enziminin 2' - Deoksiadenozin için Elde Edilen Michaelis Menten Eğrisi

Substrat olarak 2' - deoksiadenozin kullanarak yaptığımız çalışmamızda, 2 - 16 mM 2'-deoksiadenozin substrat konsantrasyonlarında serum ADA aktivite düzeyleri ölçülerek Michaelis Menten eğrisi elde edilmiştir (Şekil 4.2).

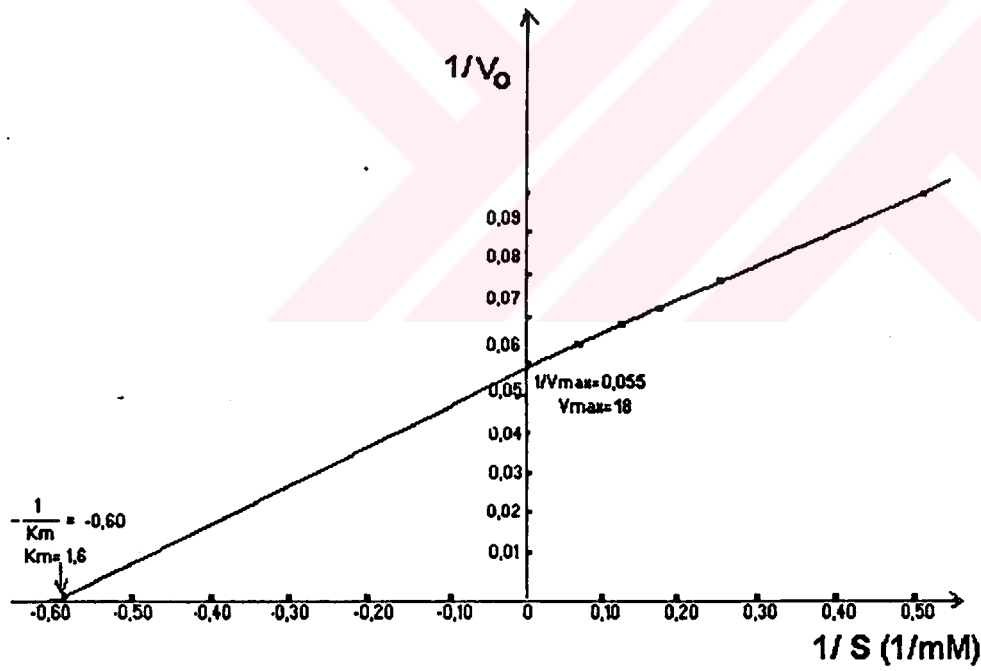


Şekil 4.2 : Serum ADA enzimi Michaelis Menten Eğrisi (2'-Deoksiadenozin için)

Bir enzimin substratına olan ilgisini gösteren K_m değeri, $V_{max} / 2$ değerini veren substrat konsantrasyonu olarak 2' - deoksiadenozin için 1.4 mM olarak saptanmıştır (Şekil 4.2).

4.11.3. ADA Enziminin Adenozin için Elde Edilen Lineweaver - Burk Eğrisi

Bu çalışmamızda substrat olarak adenozin kullanarak 2 - 16 mM substrat konsantrasyonlarında Lineweaver- Burk eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.3).

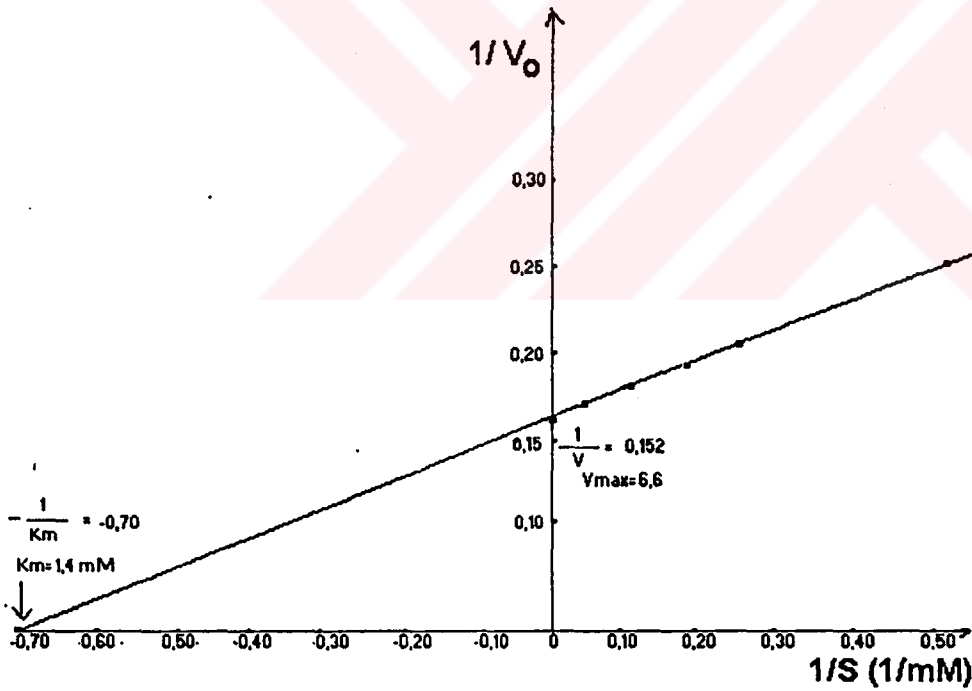


Şekil 4.3 : Serum ADA enzimi Lineweaver- Burk eğrisi (Adenozin için).

Lineweaver- Burk eğrisinde doğrunun y eksenini kestiği nokta $1/V_{\max}$, x eksenini kestiği nokta $-1 / K_m$ olarak tanımlanmıştır. Bizim çalışmamızda $1 / V_{\max}$ değeri 0.049 bulunurken $-1 / K_m$ değeri - 0.60 olarak saptanmış olup, buradan V_{\max} değeri 18 ve K_m değeri 1.6 mM olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.3).

4.11.4. ADA Enziminin 2^l- Deoksiadenozin için Elde Edilen Lineweaver- Burk Eğrisi

2 - 16 mM substrat konsantrasyonlarında 2^l- deoksiadenozin ile Lineweaver- Burk eğrisi elde edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 : Serum ADA enzimi Lineweaver- Burk Eğrisi (2^l- deoksiadenozin için).

2'- deoksiadenozin kullanarak ADA için elde edilen Lineweaver-Burk eğrisinden $1 / V_{\max}$ değeri 0.152 bulunurken, $-1 / K_m$ değeri - 0.70 olarak saptanmış olup, buradan V_{\max} değeri 6.6 ve K_m değeri 1.4 mM olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.4).



BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmamızda insan vücudunda yaygın olarak bulunan ADA aktivite düzeyleri çeşitli vücut sıvılarında Giusti yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Giusti yöntemi, substrat olarak adenzin kullanılarak elde edilen amonyum iyonunun sodyum hipoklorit ve fenol / nitroprussid ile birlikte alkali çözeltisinde koyu mavi indofenol şeklini alması ilkesine dayanan Berthelot yönteminin modifiye şekli olarak tanımlanmıştır. Bu yöntem, laboratuvar koşullarımıza uygunluğu ve kullanılan maddelerin kolay elde edilmesi açısından tercih edilmiştir. Giusti (1974), bu yöntemin diğer deaminazların aktivitelerini ölçmek için kolaylıkla adapte edilebildiğini bildirmiştir.

Çalışmamızın birinci aşamasında dalga boyu taraması yapılmıştır. İndofenolün Giusti yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçümünde Giusti (1974), Piras ve Gakis (1973) 628 nm dalga boylarını kullanmışlardır. O'Donovan (1971), en yüksek absorbands değerini 630 nm de alırken, Erel (1993) bu değeri 632 nm olarak bildirmiştir. Bizim çalışmamızda en yüksek absorbands veren dalga boyu 625 nm olarak saptandığı için çalışmamızda 625 nm dalga boyu kullanılmıştır.

Serum ve plazma ADA aktivite düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemek için yaptığımız çalışmamızda, aynı kişilerden elde edilen serum ve plazma ADA aktivite düzeyleri sırasıyla 14.8 ± 4.0 (n : 10) ve 14.8 ± 4.1 (n : 10) olarak saptanmıştır. Serum ve plazma ADA aktivite düzeylerinde istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık bulunmadığı

için, plazma ADA ifadesi yerine, serum ADA ifadesinin kullanılabileceği kanısındayız.

Stabilite üzerine yapılmış değişik çalışmalar bulunmaktadır. Giusti (1974), serumun +4°C de 5 - 6 günden fazla saklanması ADA aktivite düzeyinde aktivite kaybına neden olacağını bildirmiştir. Ungerer ve ark.ları (1992) ise serumda ADA aktivite düzeyinin +25°C de en az 24 saat, +4°C de 7 gün ve -20°C de 3 ay stabil olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda -8°C ve -20°C de saklanan serum aktivite düzeyinin 1 yıl, +4°C de saklanan serum aktivite düzeyinin ise 2 gün stabil olduğu bulunmuştur. +4°C de saklanan serumların iki gün sonra ADA aktivite düzeylerinden % 15 oranında kaybettikleri saptanmıştır. Klockars ve ark.ları (1991), serum örneklerinin dondurulup tekrar çözülmesi ile ADA aktivite düzeylerinin etkilenmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise -8°C ve -20°C de saklanan serum örneklerinin birden fazla dondurulup çözülmesi ile ADA aktivite düzeylerinde % 15 oranında bir aktivite kaybı olduğu bulunmuştur. Bu nedenle birden fazla dondurulup çözülmüş örneklerde ADA aktivite düzeylerinin çalışılmaması gerektiği kanısındayız.

Farklı kontrol gruplarında serum ADA aktivite düzeyleri üzerine yapılan incelemelerde değişik bulgular rapor edilmiştir. Klockars ve ark.ları (1991), kontrol gruplarında serum ADA aktivite düzeylerini 11.1 ± 3.0 Ü/L (n : 45) olarak bulurken, Pettersson ve ark.ları (1988) 16.8 ± 10.2 Ü/L (n : 74), Koizumi ve ark.ları (1993) 17.8 ± 5.3 Ü/L, Kobayashi ve ark.ları (1993) 14.6 ± 0.9 Ü/L, Bhargava ve ark.ları (1990)

20.2 ± 13.1 Ü/L (n : 13) olarak bildirmişlerdir. Erel (1993), Elazığ yöresinde yaptığı çalışmalarda serum ADA aktivite düzeylerini ortalama 15.1 ± 3.7 Ü/L (n : 76) olarak bulurken, Şanlıurfa yöresinde serum ADA aktivite düzeylerini 18.2 ± 6.1 Ü/L (n : 35) olarak saptamıştır (Erel, 1996). Bu farklılığa çalışma koşullarındaki değişikliğin neden olduğu kanısındayız. Ayrıca yörelere özgü kalıtımın da bu değişikliğe neden olabileceğini unutmamamız gerekmektedir. Bizim çalışmamızda kontrol gruplarında serum ADA aktivite düzeyleri 15.1 ± 2.3 (n : 42) olarak bulunmuştur. Sonuçlarımız genel olarak literatürle uyum göstermektedir.

İnsan eritrositlerinde serumdan daha fazla deaminasyon görülmektedir. Valentine ve ark.ları (1977), insan eritrositlerinde deaminaz hızının kinazdan daha fazla olduğuna işaret etmişlerdir. Chen ve ark.ları (1978), kontrol grubunda eritrosit ADA aktivite düzeylerini 36.1 ± 6.7 µmol / saat- gHb (n : 67) olarak bildirirken, Bory ve ark.ları (1990), eritrositlerde normal ADA aktivite düzeylerini 61 ± 29 nmol / saat- mgHb olarak vermişlerdir. Bizim çalışmamızda eritrosit ADA aktivite düzeyleri kontrol gruplarında 65.9 ± 17.7 nmol / saat- mgHb (n : 42) olarak saptanmıştır. Bu bulgularımız Bory ve ark.larının (1990) yapmış oldukları çalışmalara uygunluk göstermektedir.

Biyolojik sıvılarda değişik kanser gruplarında yapılan çalışmalar sonunda yüksek ADA aktivite düzeyi alınmıştır. Koizumi ve Ohkawara (1992), T hücre lösemili hastalarda serum ADA aktivite düzeylerini ortalama 23.6 Ü/L olarak bulurken, Pettersson ve ark.ları (1988), Ungerer ve ark.ları (1992), ALL'li hastalarda yüksek serum ADA aktivite düzeyi alındığını bildirmişlerdir. Namiot ve ark.ları (1994),

gastrik kanserli hastaların gastrik sıvılarında kontrollerden daha yüksek ADA aktivite düzeyi saptamışlardır. Kane ve ark.ları (1992), ALL'li hastaların kanser hücrelerinde ADA aktivite düzeylerini kontrollere oranla 23 kat yüksek bulmuşlardır. Bhargava ve ark.ları (1990), periton kanserli hastalarda serum ADA aktivite düzeyini 25.0 ± 10.9 Ü/L (n : 4) olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise farklı tanı konmuş kanser hastalarında serum ve eritrosit ADA aktivite düzeyleri sırasıyla 23.0 ± 6.7 Ü/L (n : 20) ve 68.6 ± 23.3 nmol / saat-mgHb (n : 20) olarak bulunmuştur. Kanserli hastalarda eritrosit ADA aktivite düzeyleri (nmol / saat- mgHb) kontrollere oranla anlamlı bir farklılık göstermemekle birlikte, kanserli hastalarda serum ADA aktivite düzeyleri kontrollere oranla artma yönünde anlamlı bir farklılık göstermiştir (p < 0.001). Biz kanser hücrelerinde artan enzim aktivite düzeyinin serum veya plazma ADA aktivite düzeyini etkilediğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda kontrol ve kanserli gruplarda serum ve eritrosit ADA aktivite düzeylerinde cinsiyete bağlı bir değişme gözlenmemiştir.

Kontrol ve kanserli gruplarda bazı biyokimyasal parametrelerle serum ADA aktivite düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu çalışmamızda kanserli kadın grup serum ürik asit düzeyleri ve kanserli toplam grup AST düzeylerinde kontrollere oranla anlamlı bir artış bulunmuştur (p < 0.05).

Total protein ve albuminin sentezlendiği yer karaciğerdir. Kanserli hastalarda en fazla metastaza uğrayacak organlardan birisi karaciğer olduğu için karaciğer yetmezliğinde total protein ve albumin sentezleri azalacağından serum düzeylerinde azalma görülebilmektedir. Bizim çalışmamızda, serum total protein düzeylerinde kanserli erkek

ve toplam gruplarda kontrollere oranla anlamlı bir azalma gözlenirken ($p<0.001$), benzer azalma kanserli kadın ve erkeklerde serum albumin düzeylerinde de saptanmıştır ($p<0.001$). Kanserli hastalarda serum total protein ve albumin düzeylerinde kontrollere oranla gözlenen bu anlamlı azalmadan dolayı, bu hastalarda karaciğerin de etkilendiğini düşünmekteyiz.

Serum ADA aktivite düzeylerinin yaşa bağlı değişimini incelemek için 19 - 39 ve 39 yaşın üzerinde olmak üzere iki farklı kontrol grubu oluşturulmuştur. 39 yaşın üzerindeki kontrol grubunda serum ADA aktivite düzeyleri, 19 - 39 yaş kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Kanserli 19 - 39 yaş arası hasta grubu oluşturulamadığı için kanserli hastalarda yaşa göre serum ADA aktivite düzeylerinin değişimi incelenememiştir.

Plevra sıvısı ADA aktivite düzeyi birçok araştırmacılar tarafından farklı hastalıklarda incelenmiştir. Antony (1996), tüberküloz efüzyonlarda plevra ADA aktivite düzeyini kontrollerden yüksek bulmuşlardır. Shibagaki ve ark.ları (1996), tüberküloz efüzyonlarda plevra ADA aktivite düzeylerinin akciğer kanserli hastaların plevra ADA aktivite düzeylerinden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Banales ve ark.ları (1991), tüberküloz efüzyonlarda plevra ADA aktivite düzeylerini ortalama 123.25 ± 39.4 Ü/L bulurken, kontrollerde bu değeri 30.36 ± 26.4 Ü/L olarak bildirmişlerdir. Erel (1993), tarafından bildirildiğine göre ; Stranphinge ve ark.ları, konjestif kalp yetmezliğinde plevra ADA aktivite düzeyini 16.0 Ü/L ve lösemili hastalarda 19.7 Ü/L olarak bulurken, Ocana ve ark.ları, neoplastik hastalıklarda plevra ADA aktivite düzeyini 13.02 ± 9.66 Ü/L olarak rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarına analiz için gelen plevra sıvılarında ortalama ADA aktivite düzeyi 12.6 ± 3.8 Ü/L (n : 6) olarak saptanmıştır. Banales ve ark.ları (1991), immunitenin hücresele düzeyde olduğu tüberkülozlu hastaların plevra sıvılarında bulunan yüksek ADA aktivite düzeyini, T lenfositlerindeki enzimin yüksek aktivasyonu ile açıklamışlar ve tüberkülozun erken tanısında kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda analiz için gelen plevra sıvıları, tanısını bilmediğimiz hastalardan alındığı için önceki çalışmalarla elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmamıştır.

Değişik hasta gruplarının periton sıvılarında bulunan ADA aktivite düzeyleri saptanmıştır. Segura ve ark.ları (1989), tüberkülozlu hastalarda periton sıvısı ADA aktivite düzeyini 1.50 µkat / L (88 Ü/L) olarak bulurken, kanser hastalarında 0.30 µkat / L (17.6 Ü/L) ve non-spesifik peritonitlerde 0.10 µkat / L (5.88 Ü/L) olarak bildirmişlerdir. Bhargava ve ark.ları (1990), periton sıvısında çeşitli hasta gruplarında çalışmalar yapmışlar ve periton tüberkülozlarında 141.03 ± 61.5 Ü/L (n : 17), karaciğer sirozunda 10.0 ± 7.8 Ü/L (n : 31), periton kanserinde 19.7 ± 13.5 Ü/L (n : 22), Budd-Chiari sendromunda 14.8 ± 7.2 Ü/L (n : 7) olarak saptamışlardır. Segura ve ark.ları (1989), tüberkülozlu hastalarda plevra ADA aktivite düzeyini periton sıvısı ADA aktivite düzeyinden daha yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesine analiz için gelen periton sıvılarında ortalama ADA aktivite düzeyi 38.8 ± 35.5 Ü/L (n : 4) olarak bulunmuştur. Periton sıvısı ADA aktivite düzeyinin tüberkülozlu hastalarda yüksek olarak elde edilmesi, bu hastalarda immunitenin

hücresel düzeyde olması ve dolayısıyla T hücrelerindeki ADA enziminin artmasından kaynaklanmaktadır (Segura et al. 1989). Çalışmamızda kullandığımız periton sıvıları, tanısını bilmediğimiz hastalardan alındığı için bu konuda yapılan çalışma sonuçları ile karşılaştırılamamıştır.

Piras ve Gakis (1973), BOS ADA aktivite düzeyini tüberküloz menenjitli hastalarda 12.35 ± 3.78 Ü/L (n : 13), bakteriyel menenjitli hastalarda 2.63 ± 1.80 Ü/L (n : 14), viral menenjitli hastalarda 1.46 ± 0.94 Ü/L (n : 13), epilepsili hastalarda 0.98 ± 0.72 Ü/L (n : 7), kanser hastalarında 0.85 ± 0.74 , kronik hastalıklarda 1.10 ± 0.71 Ü/L (n : 12), akut hastalıklarda 0.77 ± 0.51 Ü/L (n : 7) ve kontrollerde 0.65 ± 0.47 Ü/L (n : 12) olarak bulmuşlardır. Segura ve ark.ları (1989), tüberkülozlu pediatrik hastaların % 50' sinde BOS ADA aktivite düzeyini $0.15 \mu\text{kat} / \text{L}$ (9.0 Ü/L)' den daha az bulmuşlardır. Segura ve ark.ları (1989) tarafından bildirildiğine göre; Malon ve ark.ları BOS ADA aktivite düzeylerini bakteriyel menenjitlerde daha yüksek bulmuşlar ve bakteriyel menenjitleri bakteriyel olmayanlardan ayırmak için ölçülen BOS ADA aktivite düzeylerinin iyi bir fikir verebileceğini söylemişlerdir. Bizim çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarına analiz için gelen BOS örneklerinde ADA aktivite düzeyi 9.5 ± 2.6 Ü/L ($0.16 \mu\text{kat} / \text{L}$) (n : 6) olarak saptanmıştır. ADA enzimi kan beyin bariyerini geçemez. Tüberküloz menenjitde kandan ya da komşu dokudan BOS'a ADA geçişinin artmasının, kan beyin bariyerindeki bozukluktan ileri gelebileceği düşünülmüştür (Erel 1993). Bu çalışmada kullandığımız BOS örneklerinin alındığı hastaların tanıları bilinmediği için önceki sonuçlarla karşılaştırma yapılamamıştır.

Pettersson ve ark.ları (1988), eklem sıvısında ADA aktivite düzeylerini seropozitif romatoid artritli ve kronik seronegatif poliartritli hastalarda osteoartritli hastalardan daha yüksek bulmuşlardır. Osteoartritlerde eklem sıvısı ADA aktivite düzeyleri 16.0 ± 7.1 Ü/L (n : 14), kronik artritlerde 40.5 ± 30.2 Ü/L (n : 8), seronegatif poliartritlerde 31.6 ± 13.9 Ü/L (n : 28), seropozitif romatoid artritlerde 39.2 ± 21.0 Ü/L (n : 32) olarak verilmiştir. Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Hastanesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarına analiz için gelen eklem sıvısında ADA aktivite düzeyi 11 Ü/L (n : 1) olarak bulunmuştur. Bulunan bu sonuç, eklem sıvısının tanısı bilinmeyen bir hastadan alınmasından dolayı önceki sonuçlarla karşılaştırılamamıştır.

Çeşitli biyolojik sıvılarda makrofajları etkileyen mikroorganizmaların yaptıkları hastalıklarda orta boy izoenzim (ADA_2) aktivite düzeyi yüksek bulunmuştur. Gakis ve ark.ları (1991), ADA_2 'nin 2'-deoksiadenozine ilgisinin oldukça az olduğuna ve immunité ile ilgisinin olmadığına dikkat çekmişlerdir. Substrat olarak 2'-deoksiadenozin kullanarak yaptığımız çalışmamızda BOS ADA aktivite düzeyinde adenozone göre % 98.8, plevra sıvısı ADA aktivite düzeyinde % 78.8, periton sıvısı ADA aktivite düzeyinde % 23.0, eklem sıvısı ADA aktivite düzeyinde % 45.5, serum ADA aktivite düzeyinde % 41.0 ve eritrosit ADA aktivite düzeyinde %38.0 oranında azalma gözlenmiştir. Değişik vücut sıvılarında gözlenen bu azalmayı Gakis ve ark.ları (1991), vücut sıvılarında bazı enfeksiyon hastalıklarında 2'-deoksiadenozine ilgisi az olan ADA_2 'nin artmasına bağlamışlardır.

ADA enziminin kinetik özellikleri üzerine birçok araştırmacılar tarafından yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Enzimin substrata olan ilgisinin bir ölçüsü olan K_m değeri de bu kinetik özelliklerden birisidir.

Meyskens ve Williams (1971), eritrosit ADA enziminin adenozin için K_m değerini 40 mM olarak bulurken, Agarwal ve ark.ları (1975), bu değeri 25 mM olarak saptamışlardır. Osborne ve Spencer (1973), eritrositlerde ADA₁ izoenziminin adenozin için K_m değerini 30.8 ± 2.9 mM , ADA₂ izoenzimi için K_m değerini 28.0 ± 2.2 mM ve ADA₂₋₁ izoenzimi için K_m değerini 29.0 ± 2.7 mM olarak bildirmişlerdir. Maury ve ark.ları (1991), sığır intestinal ADA enziminin adenozin için K_m değerini 33 mM , Sato ve Aikawa (1991) ise adenozin için aynı K_m değerini 35 mM olarak saptamışlardır. Erel (1993), serum ADA enziminin adenozin için K_m değerini 1.4 mM bulurken, bizim çalışmamızda bu değer 1.6 mM olarak saptanmıştır.

ADA enziminin 2'-deoksiadenozine ilgisinin adenezine göre daha fazla olduğu söylenmektedir (Seegmiller 1985). Agarwal ve ark.ları (1975), eritrosit ADA enziminin 2'-deoksiadenozin için K_m değerini 7 mM olarak bildirirken, Erel (1993), serum ADA enziminin 2'-deoksiadenozin için K_m değerini 1.0 mM olarak bulmuştur. Sato ve Aikawa (1991), sığır intestinal ADA enziminin 2'-deoksiadenozin için K_m değerini 50 mM olarak bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise serum ADA enziminin 2'-deoksiadenozin için K_m değeri 1.4 mM olarak saptanmıştır. Substrat olarak kullanılan 2'-deoksiadenozinin enzim substrat kompleksi oluşturmak için gerekli enzim substrat ilgisinin adenezine göre daha iyi olduğu kanısındaız.

Kısaca özetleyecek olursak, çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir :

1- Giusti yöntemiyle ölçümde en yüksek aktivite 625 nm de alındığı için çalışmamızda 625 nm dalga boyu kullanılmıştır.

2- Serum ve plazma ADA aktivite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı için plazma ADA yerine de serum ADA ifadesi kullanılmıştır.

3- Serum ADA aktivite düzeyi -20°C ve -8°C de 1 yıl, $+4^{\circ}\text{C}$ de ise 2 gün stabildir. İki kez dondurulup çözünen serum örneklerinde ADA aktivite düzeyinin % 15 oranında azaldığı gözlenmiştir.

4- Kontrol gruplarında serum ADA aktivite düzeyleri 15.1 ± 2.3 Ü/L (n : 42) olarak bulunurken, kanserli hastalarda serum ADA aktivite düzeyleri 23.0 ± 6.7 Ü/L (n : 20) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda serum ADA aktivite düzeyleri kontrollere oranla anlamlı bir artış (% 34) göstermiştir ($p < 0.001$).

5- Kontrol gruplarında eritrosit ADA aktivite düzeyleri 62.9 ± 17.7 nmol / saat- mgHb (n : 42) olarak bulunurken, kanserli hastalarda eritrosit ADA aktivite düzeyleri 68.6 ± 23.3 nmol / saat mgHb (n : 20) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda eritrosit ADA aktivite düzeyleri kontrollere oranla anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

6- Kanserli toplam grup serum albumin ($p < 0.001$) düzeyi ile total protein ($p < 0.05$) düzeyi kontrollere göre anlamlı bir azalma gösterirken, serum AST düzeyi kontrollere oranla anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0.05$).

7- Kontrol gruplarında yaşa göre serum ADA aktivite düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

8- İnsan vücut sıvılarından idrar ve tükürükte ADA aktivite düzeyi elde edilemezken, diğerlerinde farklı düzeylerde ADA aktivite düzeyi saptanmıştır.

9- Çeşitli vücut sıvılarında substrat olarak 2'- deoksiadenozin kullanıldığı zaman ADA aktivite düzeylerinde azalma gözlenmiştir.

10- Substrat olarak adenzin kullanılarak elde edilen Michaelis Menten ve Lineweaver - Burk eğrisinde serum ADA enziminin adenzin için K_m değeri 1.6 mM bulunurken, serum ADA enziminin 2'- deoksiadenozin için K_m değeri 1.4 mM olarak saptanmıştır.



KAYNAKLAR

1. UNGERER, JPJ., OOSTHUIZEN, HM., BISSBORT, SH., VERMAAK, WJH.:
Serum Adenosine Deaminase : Isoenzymes and Diagnostic Application.
Clin Chem. 38 : 1322 - 1326 , 1992.
2. GOLDBERG, DM. : Serum Adenosine Deaminase in the Differential
Diagnosis of Jaundice. Brit Med J. 1 : 353 - 355 , 1965.
3. GIUSTI, G. : Adenosine Deaminase. In : Methods of Enzymatic Analysis,
(2nd Ed),, Bergmeyer, HU., New York, Academic Press, 1974,
1092 - 1099.
4. VAN DER WEYDEN, MB., KELLEY, WN. : Human Adenosine Deaminase.
J Biol Chem. 251 : 5448 - 5456 , 1976.
5. CENTELLES, JJ., FRANCO, R. : Rapid Purification of Adenosine
Deaminase from Rat Liver. Biochem Soc Trans. 15 : 884 - 885 , 1987.
6. VALENTINE, WN., PAGLIA, DE., GILSANZ, F. : Hereditary Hemolytic
Anemia with Increased Red Cell Adenosine Deaminase (45- to 70- fold)
and Decreased Adenosine Triphosphate. Science, 195 : 783 - 784, 1977.
7. AYKAN, TB., TÜZÜNER, N., SAV, A., İNCE, Ü. : Kısa Patoloji. Nobel Tıp
Kitabevi , İstanbul , 1987 , 282 - 294.
8. BALIS, ME. : Adenosine Deaminase and Malignant Cells. Ann N Y Acad
Sci. 451 : 142 - 149, 1985.
9. KOIZUMI, H., OHKAWARA, A. : Adenosine Deaminase Activity in Sera of
Patients with Psoriasis, Mycosis Fungoides and Adult T Cell Leukemia.
Acta Derm Venereol , 72 : 410 - 412 , 1992.
10. NAMIOT, Z., KEMONA, A., STASIEWICZ, J., MARCINKIEWICZ, M.,
NAMIOT, A., GORSKI, J. : Adenosine Deaminase Activity in Gastric
Cancer. Cancer Lett. 82 : 95 - 98 , 1994.

11. DONMA, MM., DONMA, O. : Diagnostic Efficacy of Adenosine Deaminase for Future Therapeutic Approaches in Immuno - Deficiency Disorders. Lab Med Intern. 13 : 16 - 19 , 1996.
12. YÜREĞİR, G. : Temel Biyokimya 1. 3. Baskı, Çukurova Üniv. Tıp Fak. Yayınları, Adana, 1988, 152-153.
13. GÖZÜKARA, E. : Biyokimya 2. 2. Baskı, Evin Matbaası, Malatya, 1994, 665-666.
14. SOLOMON, JB. : Constitutive Enzymes of the Developing Chick Embryo: Adenosine Deaminase. Biochem J. 75 : 278 - 284 , 1959.
15. AGARWAL, RP., SAGAR, SM., PARKS, RE. : Adenosine Deaminase from Human Erythrocytes. Biochem Pharmacol. 24 : 693 - 701 , 1975.
16. SPENCER, N., HOPKINSON, DA., HARRIS, H. : Adenosine Deaminase Polymorphism in man. Ann Hum Genet. 32 : 9 - 14 , 1968.
17. STRYER, L. : Biochemistry. 3 rd Ed., New York, WH Freeman Company, 1988 , 626-627.
18. STARKEY, JT., MA, C., MA, PF. : A Study of Adenosine Deaminase and Its Conversion Factor in Human Serum. Adv Exp Med Biol. 253 : 65 - 69 , 1989.
19. CENTELLES, JJ., FRANCO, R. : Slight Differences Between Adenosine Deaminase from Different Species an Immunochemical Study. Arch Int Physiol Biochim. 98 : 421 - 431 , 1990.
20. SENESI, S., BATONI, G., BIANCHI, F., FREER, G., DOLFI, A., CAMPA, M., LUPETTI, M. : Questioning the Role of Adenosine Deaminase in the Development of B Lymphocytes in Chicken Bursa. Dev Comp Immunol. 14 : 98 - 104 , 1990.

21. FRANCO, R., ARAN, JM., COLOMER, D., MATUTES, E., VIVES-CORRONS, JL. : Association of Adenosine Deaminase with Erythrocyte and Platelet Plasma Membrane : An Immunological Study Using Light and Electron Microscopy. *J Histochem Cytochem.* 38 : 653 - 658 , 1990.
22. SEHGAL, VN., BHATTACHARYA, SN., SHAH, Y., RAO, YN., GUPTA, CK. : Lymphocyte Adenosine Deaminase Activity (L-ADA) in Leprosy, During and After Treatment of Reactions. *Clin Exp Dermatol.* 17 : 20-23, 1992.
23. KHOSLA, SN., KUMAR, D., SINGH, V. : Lymphocytic Adenosine Deaminase Activity in Typhoid Fevers. *Postgrad Med J.* 68 : 268 - 271, 1992.
24. LEHNINGER, AL., NELSON, DL., COX, MM. : Principles of Biochemistry. 2 nd Ed., New York, Worth Publishers, 1993 , 727 - 729.
25. OTTAWAY, JH., APPS, DK. : Biochemistry. 4 th Ed., Cambridge, Bailliere Tindal, 1984 , 57 - 59.
26. FAIRBANKS, VF., KLEE, GK : Biochemical Aspects of Hematology. In : Textbook of Clinical Chemistry, Tietz, NW., London, WB. Saunders Company , 1994 , 1980-1981.
27. MATHEWS, CK., VAN HOLDE, KE. : Biochemistry. Redwood, Cummings Publishing Company, 1990 , 742 - 778.
28. ONAT, T. : Biyokimya. 2. Baskı, Saray Tıp Kitabevi, İzmir, 1994, 394 - 400.
29. SIM, MK., MAGUIRE, MH. : Studies on Adenosine Deaminase. *Eur J Biochem.* 23 : 17 - 21 , 1971.

30. SCHRADER, WP., STACY, AR. : Purification and Subunit Structure of Adenosine Deaminase from Human Kidney. *J Biol Chem.* 252 : 6409 - 6415 , 1977.
31. DADDONA, PE., KELLEY, WN. : Human Adenosine Deaminase Binding Protein. *J Biol Chem.* 253 : 4617 - 4623 , 1978.
32. MURAOKA, T., KATSURAMAKI, T., SHIRAISHI, H., YOKOYAMA, MM. : Automated Enzymatic Measurement of Adenosine Deaminase Isoenzyme Activities in Serum. *Anal Biochem.* 187 : 268 - 272 , 1990.
33. OSBORNE, WRA., SPENCER, N. : Partial Purification and Properties of the Common Inherited Forms of Adenosine Deaminase from Human Erythrocytes. *J Biochem.* 133 : 117 - 123 , 1973.
34. TANAKA, H., KAWAKAMI, T., YANG, ZB., KOMIYAMA, K., OMURA, S. : Potentiation of Cytotoxicity and Antitumor Activity of Adenosine Analogs by the Adenosine Deaminase Inhibitor Adecypenol. *J Antibiotics.* 11 : 1722 - 1723 , 1989.
35. KANE, BJ., KUHN, JG., ROUSH, MK. : Pentostatin : An Adenosine Deaminase Inhibitor for the Treatment of Hairy Cell Leukemia. *Ann Pharmacother.* 26 : 939 - 947 , 1992.
36. KELLEMS, RE., YEUNG, CY., INGOLIA, DE. : Adenosine Deaminase Deficiency and Severe Combined Immunodeficiencies. *Trends Genet.* 1: 278 - 283 , 1985.
37. HENDERSON, JF., BROX, L., ZOMBOR, G., HUNTING, D., LOMAX, CA.: Specificity of Adenosine Deaminase Inhibitors. *Biochem Pharmac.* 25 : 1967 - 1972 , 1977.

38. MAURY, G., DAIBOUN, T., ELALAOU, A., GENU-DELLAC, C., PERIGAUD, C., BERGOGNE, C., GOSSELIN, G., IMBACH, JL. :Inhibition and Substrate Specificity of Adenosine Deaminase. Interaction with 2'-, 3'-and / or 5'- Substituted Adenine Nucleoside Derivatives. *Nucleos Nucleot.* 8 : 1677 - 1692 , 1991.
39. FEIGELSON, P., DAVIDSON, JD. : The Inhibition of Adenosine Deaminase by 8 - Azaguanine in vitro. *J Biol Chem.* 3 : 66 - 73 , 1956.
40. SEEGMILLER, JE. : Overview of Possible Relation of Defects in Purine Metabolism to Immune Deficiency. *Ann N Y Acad Sci.* 451 : 10 - 19, 1985.
41. CİLİV, G., EMERK, K., KARAN, A. : İnsan Biyokimyasına Giriş. 2. Baskı, Hacettepe Üniv. Yayınları, Ankara, 1980 , 266-267.
42. MEYSKENS, FL., WILLIAMS, HE. : Adenosine Metabolism in Human Erythrocytes. *Biochem Biophys Acta.* 240 : 170 - 179, 1971.
43. ACHTERBERG, PW., HARMSSEN, EEF., JONG, JW. : Adenosine Deaminase Inhibition and Myocardial Purine Release During Normoxia and Ischaemia. *Cardiovasc Res.* 19 : 593 - 598 , 1985.
44. HIRSCHHORN, R. : Overview of Biochemical Abnormalities and Molecular Genetics of Adenosine Deaminase Deficiency. *J Pediatr Res.* 33 : 35 - 41 , 1993.
45. KORKMAZ, M., KOCABEY, Z. : Biyokimya İpuçları. Saray Tıp Kitabevi, İzmir, 1985, 34-35.
46. CARSON, DA., IIZASA, T., SETO, S., CARRERA, CJ., KUBOTA, M., WILLIS, EH., WASSON, DB., KAJANDER, O. : Metabolic Basis for Immune Dysfunction in Adenosine Deaminase Deficiency. *Ann N Y Acad Sci.* 451 : 34 - 41, 1985.

47. **SCHRADER, WP., STACY, AR. : Immunoassay of the Adenosine Deaminase Complexing Proteins of Human Tissues and Body Fluids. J Biol Chem. 254 : 11958 - 11963, 1979.**
48. **CHEN, SH., OCHS, HD., SCOTT, CR. : Adenosine Deaminase Deficiency. J Clin Invest. 62 : 1386 - 1389, 1978.**
49. **MARMOCCHI, F., LUPIDI, G., VENARDI, G., RIVA, F. : Adenosine Deaminase from Saccharomyces Cerevisiae : Purification and Characterization. Biochem J. 14 : 569 - 580, 1987.**
50. **BORY, C., BOULIEU, R., SOUILLET, G., CHANTIN, C., ROLLAND, MO., MATHIEU, M., HERSHFIELD, M. : Comparison of Red Cell Transfusion and Polyethylene Glycol - Modified Adenosine Deaminase Therapy in a Adenosine Deaminase - Deficient Child : Measurement of Erythrocyte Deoxyadenosine Triphosphate as a Useful Tool. J Pediatr Res. 28 : 127- 130, 1990.**
51. **JAQUETI, J., MARTINEZ - HERNANDEZ, D., HERNANDEZ - GARCIA, R., NAVARRO - GALLAR, F., ARENAS - BARBERO, J. : Adenosine Deaminase in Pregnancy Serum. Clin Chem. 36 : 2144, 1990.**
52. **PETTERSSON, T., KLOCKARS, M., WEBER, TH., ESSEN, R. : Adenosine Deaminase Activity in Joint Effusions. Scand J Rheumatol. 17 : 365 - 369, 1988.**
53. **PIRAS, MA., GAKIS, C. : Cerebrospinal Fluid Adenosine Deaminase Activity in Tuberculous Meningitis. Enzyme, 14 : 311 - 317, 1973.**
54. **SEGURA, RM., PASCUAL, C., OCANA, I., MARTINEZ - VAZQUEZ, JM., RIBERA, E., RUIZ, I., PELEGRI, MD. : Adenosine Deaminase in Body Fluids : A Useful Diagnostic Tool in Tuberculosis. Clin Biochem. 22 : 141 - 148, 1989.**

55. GAKIS, C., CALIA, GM., NAITANA AGV., ORTU, AR., CONTU, A. : Serum and Pleural Adenosine Deaminase Activity. Chest, 99 : 1555, 1991.
56. BANALES, JL., PINEDA, PR., FITZGERALD, JM., RUBIO, H., SELMAN, M., SALAZAR - LEZAMA, M. : Adenosine Deaminase in the Diagnosis of Tuberculous Pleural Effusions. Chest, 99 : 355 - 357, 1991.
57. KOBAYASHI, F., IKEDA, T., MARUMO, F., SATO, C. : Adenosine Deaminase Isoenzymes in Liver Disease. Am J Gastroenterol. 88 : 266 - 271, 1993.
58. SHIBAGAKI, T., HASEGAWA, Y., SAITO, H., YAMORI, S., SHIMOKATA, K. : Adenosine Deaminase Isozymes in Tuberculous Pleural Effusion. J Lab Clin Med. 127 : 348 - 352, 1996.
59. ANTONY, VB. : Adenosine Deaminase Isoenzymes and Pleural Tuberculosis. J Lab Clin Med. 127 : 326 - 327, 1996.
60. CHOTTINER, EG., GINSBURG, D., TARTAGLIA, AP., MITCHELL, BS. : Erythrocyte Adenosine Deaminase Overproduction in Hereditary Hemolytic Anemia. Blood, 74 : 448 - 453, 1989.
61. BHARGAVA, DK., GUPTA, M., NIJHAWAN, S., DASARATHY, S., KUSHWAHA, AKS. : Adenosine Deaminase (ADA) in Peritoneal Tuberculosis : Diagnostic Value in Ascitic Fluid and Serum. Tubercle, 71 : 121 - 126, 1990.
62. KOIZUMI, H., TOMIZAWA, K., TANAKA, H., KUMAKIRI, M., OHKAWARA, A. : Clinical Significance of Serum Adenosine Deaminase Activity in Patients with Mycosis Fungoides. J Dermatol. 20 : 394 - 399 , 1993.
63. KLOCKARS, M., KLEEMOLA, M., LEINONEN, M., KOSKELA, M. : Serum Adenosine Deaminase in Viral and Bacterial Pneumonia. Chest, 99 : 623- 626, 1991.

64. TROTTA, PP., BALIS, ME. : Characterization of Adenosine Deaminase from Normal Colon and Colon Tumors. Evidence for Tumor - Specific Variants. *Biochemistry*, 17 : 270 - 277, 1978.
65. SANFILIPPO, O., CAMICI, M., TOZZI, MG., TURRIANI, M., FARANDA, A., IPATA, PL., SILVESTRINI, R. : Relationship Between the Levels of Purine Salvage Pathway Enzymes and Clinical/Biological Aggressiveness of Human Colon Carcinoma. *Biochem Biophys.* 14 : 57- 66, 1994.
66. SEVERINI, G. : Uremic Toxins and Adenosine Deaminase Activity. *Clin Biochem.* 27 : 273 - 276, 1994.
67. KALCKAR, HM. : Differential Spectrophotometry of Purine Compounds by Means of Specific Enzymes. *J Biol Chem.* 167 : 445 - 459, 1947.
68. GERCIGNANI, G. : The pH Dependence of Spectral Parameters for Kalckar's Adenosine Deaminase Assay. *Anal Biochem.* 166 : 418 - 423, 1987.
69. SATO, Y., AIKAWA, T. : Adenosine Deaminase in the Adductor Muscle of the Scallop, *Patinopecten Yesscensis*. *Comp Biochem Physiol.* 99 : 221 - 232, 1991.
70. HIRSCHHORN, R., MARTINIUK, F., ROSEN, FS. : Adenosine Deaminase Activity in Normal Tissues and Tissues from a Child with Severe Combined Immunodeficiency and Adenosine Deaminase Deficiency. *Clin Immunol Immunopathol.* 9 : 287 - 292, 1978.
71. DINJENS, WNM., KATE, JT., LINDEN, EPM., WIJNEN, JT., KHAN, PM., BOSMAN, FT. : Distribution of Adenosine Deaminase Complexing Protein (ADCP) in Human Tissues. *J Histochem Cytochem.* 37 : 1869 - 1875, 1989.

72. TAX, WJM., WEERKAMP, JH. : Activity of Adenosine Deaminase and Purine Nucleoside Phosphorylase in Erythrocytes and Lymphocytes of Man, Horse and Cattle. *Comp Biochem Physiol.* 61 : 439 - 441, 1978.
73. O'DONOVAN, J. :Inhibition of the Indophenol Reaction in the Spectrophotometric Determination of Ammonia. *Clin Chim Acta.* 32 : 59- 61, 1971.
74. EREL, Ö. : Adenozin Deaminaz (ADA) Enziminin Kinetik Özellikleri, Otomatik Analizör ile Aktivite Ölçümü, Tüberküloz ve Lepra Hastalarında Serum ADA Aktivitesi ve Bazı Biyokimyasal Parametreler. Uzmanlık Tezi, Elazığ, 1993.
75. OOSTHUIZEN, HM., UNGERER, JPJ., BISSBORT, SH. : Kinetic Determination of Serum Adenosine Deaminase. *Clin Chem.* 39 : 2182 - 2185, 1993.
76. KUTLUK, T., KARS, A. : Kanser Konusunda Genel Bilgiler. Başbakanlık Basımevi, Ankara, 1994, 7 - 21.
77. YENSON, M. : İnsan Biyokimyası. 5. Baskı, Beta Basımevi, İstanbul, 1984, 766 - 767.
78. STATLAND, BE., WINKEL, P. : Neoplasia. In : *Clinical Chemistry*, (2 nd Ed), Kaplan, LA., Pesce, AJ., Toronto, Mosby Company, 1989, 431, 730 - 732.
79. MURRAY, RK.: Cancer, Oncogenes, Growth Factors. In : *Harper's Biochemistry*, (21 st Ed), Murray, RK., Granner, DK., Mayes, PA., Rodwell, VW., California, Appleton and Lange, 1988, 639 - 640.
80. GAW, A., COWAN, RA., O'REILLY, DJ., STEWART, MJ., SHEPHERD, J. : *Clinical Biochemistry*. New York, Churchill Livingstone, 1995, 128 - 131.

81. **ANDERSON, KM., BONOMI, PD. : Cancer - Associated Biochemical Abnormalities. In : Applied Biochemistry of Clinical Disorders ,(2 nd Ed)., Gornall, AG., London, JP. Lippincott Company, 1986, 516 - 535.**
82. **FREI, E., BODEY, GP. : Principles of Neoplasia. In : Harrison's Principles of Internal Medicine, (7 th Ed)., Wintrobe, MM., Thorn, GW., Adams, RD., Braunwald, E., Isselbacher, KJ., Petersdorf, RG., Toronto, Mc Graw Hill Book Company, 1974, 1683 - 1689.**
83. **EREL, Ö., KOÇYİĞİT, A., AKTEPE, N., AVCI, Ş. : Şark Çıbanı Hastalarında Serum, Lökosit ve Lenfosit Adenozin Deaminaz Aktivite Düzeyleri. Türk Biyokimya Derneği XIII. Ulusal Biyokimya Kongresi Özet Kitabı, C-500, 1996.**



ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Gaziantep'te doğdu. İlk ve orta öğrenimini Gaziantep'te tamamladıktan sonra Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümüne girerek 1990 yılında tamamladı. Aynı yıl Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında kimyager olarak görev aldıktan sonra, 1994-1995 eğitim yılı 1. yarısında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde açılan Biyokimya ve Klinik Biyokimya Yüksek Lisans programına giriş sınavını kazanarak eğitime başladı. Halen Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalında kimyager olarak çalışmalarını sürdürmektedir.

Evli ve bir çocuklu olup, İngilizce bilmektedir.