

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSERÖZ VE NONKANSERÖZ BAŞ – BOYUN BÖLGESİ
DOKULARINDA ADENOZİN DEAMİNAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ**

Dt. Doğan DOLANMAZ

80063

AĞIZ, DIŞ, ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Adnan ÖZTÜRK

80063

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

1998 - ANKARA

DOKTORA
TEZ SINAVI TUTANAĞI
YÜKSEK LİSANS

Öğrencinin Adı Soyadı : Doğan DOLANMAZ
Enstitüye Kayıt No : 93-023
Anabilim Dalı : Ağız, Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi
Tez Konusu : Kanseroz ve nonkanseroz Baş Boyun Bölgesi Dokularında Adenoz
Tez No : Deaminaz Enzim Aktivitesinin İncelenmesi.
Sınav Tarihi : 8.12.1998
Sınav Başlama Saati : 10.45
Sınav Bitiş Saati : 11.45

Karar :

Süresi içinde tamamlanan sınav sonucunda, yukarıda konusu ve numarası belirtilen tezim

düzeltilmesine

kabulüne

reddine

oybirliği ~~ve çokluğu~~ ile karar verilmiştir.

Gerekeç :

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Selahattin OR

Üye

Prof.Dr. Orhan GÜVEN

Üye

Prof.Dr. Adnan ÖZTÜRK

Üye

Prof.Dr. İlker DURAK

Üye

Prof.Dr. Osman Taha KÖSEĞLU

Dinleyici listesi ektedir.

TEŐEKKÜR

Doktora öğrenciliğim süresince ve tezimin hazırlanmasında her konuda büyük bir hoşgörü ile yardımlarını gördüğüm değerli hocam Sn. Prof. Dr. Adnan ÖZTÜRK'e, çalışmalarımın başından sonuna kadar büyük katkılarını gördüğüm Sn. Doç. Dr. Orhan CANBOLAT ve Sn. Prof. Dr. İlker DURAK'a, istatistiksel değerlendirmelerin yapılmasındaki katkılarından dolayı Sn. Prof. Dr. Yaşar BAYKUL'a ve ayrıca Dt. Hakan H. TÜZ'e ve Dt. Özgür PEKTAŐ'a sonsuz teşekkürlerimle...



İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Adenozin Deaminaz	4
2.2. Adenozin Deaminazın İzoenzimleri	4
2.3. İzoenzimlerin Doku Dağılımı	5
2.4. Adenozin Deaminazın Stabilitesi	6
2.5. Adenozin Deaminazın Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	7
2.6. Adenozin Deaminazın Kinetik Özellikleri	7
2.7. Adenozin Deaminazın Aktivatörleri ve İnhibitörleri	8
2.8. Adenozin Deaminaz ve Kansere İlişkisi	9
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1. Materyal	13
3.2. Seçilen Hasta Grupları	13
3.3. Adenozin Deaminaz Aktivitesi Tayini	14
3.4. Metodun Prensipleri	15
3.5. Reaktifler	15

3.6. Deneyin Yapılışı	17
4. BULGULAR	20
4.1. Maksilla Kanseri Grubu Sonuçları	20
4.2. Maksilla Kontrol Grubu Sonuçları	21
4.3. Larinks Kanseri Grubu Sonuçları	22
4.4. Larinks Kontrol Grubu Sonuçları	23
4.5. Fibröz Hiperplazi Grubu Sonuçları	24
4.6. Gruplar Arası İlişkinin İstatistiksel Analizi	25
5. TARTIŞMA	26
6. SONUÇLAR	32
7. ÖZET	34
8. SUMMARY	36
9. KAYNAKLAR	38

1. GİRİŞ

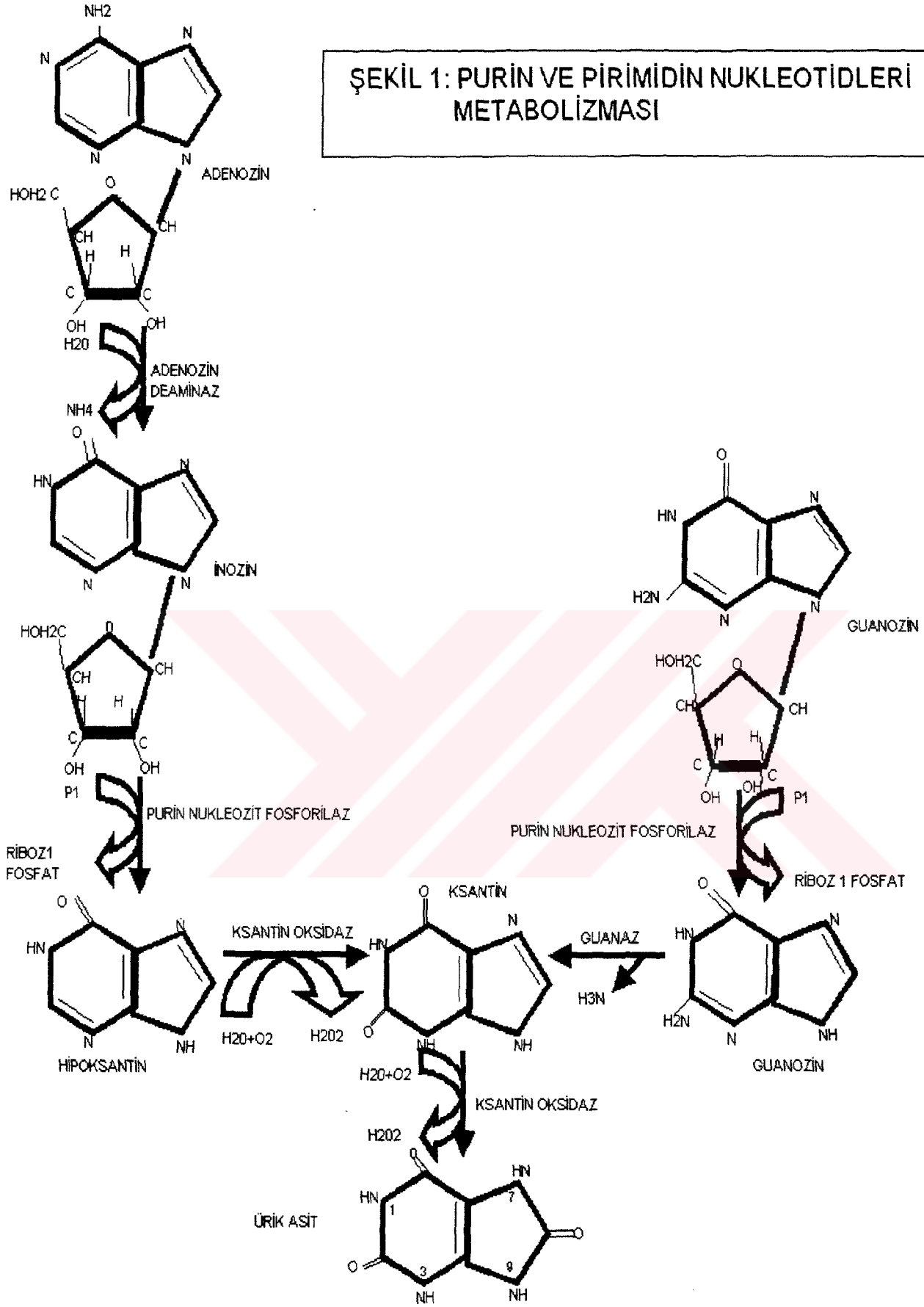
Adenozin Deaminaz (ADA 3,5,4,4) adenozinin inozine ve deoksiadenozinin deoksiinozine hidrolitik deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir (Şekil 1). ADA tarafından katalizlenen reaksiyonun irreversible olmasından dolayı bu enzim reaksiyonu adenozin degradasyonunda oran kısıtlayıcı basamaklardan biri olarak görülmektedir (Lizuka ve ark 1981; Oosthuizen ve ark 1993)

İnsan ADA enziminin üç izoenzimi olduğu saptanmıştır. Bunlar ADA₁ (35000 Dalton), ADA_{1+cp} (2800000 Dalton), ADA₂ (1000000 Dalton) 'dir. ADA₂ sadece monositlerde bulunurken, ADA₁ ve ADA_{1+cp} birçok dokuda bulunurlar (Ungerer ve ark 1992).

Yapılan çalışmalarda memelilerin tüm dokularında ADA'nın yaygın olarak bulunduğu saptanmıştır. Sırasıyla en fazla olarak bulunduğu organlar; serebral korteks, karaciğer, böbrek, timus, dalak ve lenf nodülleridir. ADA₂'nin büyük bir kısmı hücrelerin sitoplazmasında, çok az bir kısmı nükleusta bulunmaktadır. Lenfositlerde eritrositlere oranla on kat daha fazla bulunmaktadır (Chotfiner ve ark 1987; Dissing ve Kaudsen 1972; Baganha 1986).

ADA bazı araştırmacılar tarafından pürin yolu enzimi olarak kabul edilirken, bir kısım araştırmacılar ise ADA'nın pürin salvage yolunun bir enzimi olduğunu düşünmektedirler (Balis 1985; Dornand ve ark 1982; Murray ve ark 1986; Poplack ve ark 1981; Ratech ve ark 1988; Vives ve ark 1988).

ŞEKİL 1: PURİN VE PİRİMİDİN NUKLEOTİDLERİ METABOLİZMASI



Kanser doku ve hücrelerindeki bazı enzim aktiviteleri ile karsinojenik proses arasında önemli ilişkilerin bulunduğu bilinmektedir. Kanser hücrelerinde özellikle DNA ve pürin-pirimidin enzim aktiviteleri yeni düzenlemelere uğramaktadır. Normal şahıslarla karşılaştırıldığında kanserli hastalarda ADA enziminin yeni regülasyonuna bağlı olarak aktivitesinde artma – azalma olmaktadır. Bazı kanser türlerinde ise ADA' nın total aktivitesi değişmemektedir. DNA enzim aktivitesinin kanser hücresinin enzimatik değişim biçimini yansıtmaları açısından büyük önemi vardır. Bu durum özellikle kanser-enzim ilişkisi açısından araştırmacıların ilgisini çekmektedir (Canbolat ve ark 1996; Durak ve ark 1993; Durak ve ark 1994; Akyol ve ark 1995) .

Kanserli hücrede veya dokularda ADA aktivitesinin değişimi bu metabolizmayı anlamamızın yanısıra hastalığın teşhisi, tedavisinin takibi veya prognozunu değerlendirmesinde klinisyene yardımcı olabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adenozin Deaminaz

ADA (ADA, adenozin aminohidrolaz, EC, 3,5,4,4) esas olarak pürin katabolizmasında görev alan bir enzim olup, adenozin ve deoksiadenozinin sırasıyla inozine ve deoksiinozine irreversible hidrolitik deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir. İnsanda 20 no'lu kromozomdaki tek bir genetik lokus tarafından ADA sentezi kontrol altında tutulmaktadır (Grever ve ark 1983; Ho ve Ganeshaguru 1988; Ho ve ark 1986; Trangas ve ark 1989; Tritsch ve Niswander 1985; Oosthizen ve ark 1993)

Serbest adenozinin deaminasyonu ilk kez 1927 yılında György ve Röthler gözlemlemiş ve 1928 yılında Schmitd enzim aktivitesini tavşan kasında göstermiştir. Mc Elroy ve Mitchell ise 1946 yılında neuraspora'da ADA varlığını göstermişlerdir (Sumner ve Myback 1951).

2.2. İzoenzimleri

ADA insanların ve memelilerin tüm dokularında yaygın olarak bulunan bir enzimdir. Enzimin üç izoformu bulunmaktadır

- ADA₁ : Moleküler kütlesi 35 kDa olan bir proteindir.
- ADA_{1+cp} : Moleküler kütlesi 100 kDa
- ADA₂ : Moleküler kütlesi 100 kDa

ADA₁, ADA_{1+cp} ve ADA₂ tamamen aynı pH, Km ve substrat affinitelerine sahiptirler. ADA₁ ve ADA_{1+cp} km'si düşük, optimal pH'sı 7.0-7.5 olan ve deoksiadenozine karşı aynı affiniteyi gösteren bir izoenzim olup, tüm dokularda mevcuttur. ADA₂ ise substratına karşı yüksek Km'ye sahiptir ve optimal pH'sı 6.5'tir. Deoksiadenozin düşük affinite gösterir (Bondy ve ark 1980).

2.3. İzoenzimlerin Doku Dağılımı

Hızla çoğalan hücreler bölünmeyen hücelere oranla daha yüksek ADA aktivitesi içerirler. ADA'nın büyük bir kısmı hücrelerin sitoplazmasında, çok az bir kısmı da nükleuslarında bulunmaktadır

ADA izoenzimlerinin oranları dokudan dokuya farklılık gösterir. ADA_{1+cp} karaciğer, akciğer, kas ve pankreas dokusunda bulunan dominant formdur. Böbrekte ise sadece ADA_{1+cp} bulunur, diğer izoenzimler bulunmaz. ADA₁ ise dalak, lenfositler, monositler ve nötrofillerde yüksek miktarda bulunur. ADA₁ ve ADA_{1+cp} birçok dokuda ölçülebilir miktarda iken, ADA₂ sadece monositlerde bulunur (Bondy ve ark 1980).

Serumda artmış ADA aktivitesinin gözleendiği tüm durumlarda dominant olan form ADA₂'dir. Akut lenfosit lösemi (ALL) bu duruma uymayan tek hastalıktır. Normal serum ADA₁ içermez sadece ADA_{1+cp} ve ADA₂ içerir. Monositlerdeki total ADA aktivitesinin %82'sini ADA₁ oluşturduğu halde serumdaki dominant

formun neden ADA₂ olduğu hala araştırılmaktadır. ADA₁'in serumda olmayışı seruma geçen ADA₁'in cp ile birleşip ADA₁+cp oluşturmasıyla açıklanırken, serumdaki ADA₂'nin neden dominant olduğu ile ilgili u olasılık düşünölmektedir. Birincisi ADA₂'nin monositlerden aktif olarak salgılandığı, ikincisi ADA₂'nin yarı ömrünün ADA₁'den daha uzun olabileceğidir. Üçüncü olasılık ise monositlerin belli subpopölasyonlarının değişik izoenzim profiline sahip olabileceklereidir. Serumda ADA₁'in cp ile birleşip ADA₁+cp'ye dönüşümü eritrosit lizati ile serum inkübe edildiğinde lizattaki ADA₁ ile serumdaki serbest cp'nin birleşmesi sonucu ADA₁+cp oluşumu gözlenmesi ile kanıtlanmıştır. Serumda ADA₁ sadece total ADA aktivitesinin çok yüksek olduğu birkaç ALL'li hastada gözlenmiştir. Bunun nedeninin serumdaki serbest bağlayıcı proteinin tükenmesi olduğu düşünölmektedir(Bondy ve ark 1980).

2.4. Adenozin Deaminaz Stabilitesi

ADA aktivitesinin ölçüldüğü örneklere enzim stabilitesi hakkındaki bilgiler çeşitlilik göstermektedir. 25 °C de en az bir gün aktivitesini korumaktadır. Kısmi saflaştırılmış ADA preperasyonları 4 °C de birkaç hafta, dondurulduğunda birkaç yıl stabildir. 65 °C ve 70 °C de 5 dakika, ısıtmaya tabi tutulursa, aktivite sırasıyla %100 ve %36'ya düşer. Enzim 25 °C'de 30 dakika 1mM'lik P-klorocivabenzolat ile muamele edilirse aktivitede % 30'luk kayıp gözlenir (Colowick ve ark 1978)

2.5. Adenozin Deaminazın Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

ADA bir tek polipeptit zincirinden oluşur (Colowick ve ark 1978). Dana duodenumu ve dalağında elde edilen ADA'nın aminoasit içeriği asidik özellik gösterir ve izoelektrik noktası 4.85 - 5.0 civarındadır (Boyer 1971). Dana duodenumundan elde edilen ADA'nın moleküler ağırlığı 31000-35000 arasında değişmektedir (Giusti 1974). Dana duodenal ADA'sı 8M üre veya 2M guanidin HCL ile denatüre, performik asit ile okside olur (Boyer 1971).

2.6. Adenozin Deaminazın Kinetik Özellikleri

6-8 arasında geniş bir pH'ya sahip olan adenozin deaminaz için Ellis ve arkadaşları optimum pH'yı 7.5 olarak bulmuşlardır (Colowick ve ark 1978 ; Ellis ve Coldberg 1970).

Çeşitli insan dokularında ölçülen ADA'nın Km değerleri, dalakta 0.060 mmol / L, böbrekte 0.046 mmol / L, karaciğerde 0.045 mmol / L, serumda 2.03 mmol / L, lökositlerde 0.044 mmol / L ve eritrositlerde 0.026 mmol / L'dir.

Adenozin deaminazın kinetik özelliklerini gösteren parametreler homojen preparatlar için tabloda (Tablo 1) verilmiştir (Boyer 1971).

Tablo 1 :

Enzim Preperasyonu	Km (MX10 ⁵)	Vmax (Mmol/Dak/mg)	Isı °C	Optimum pH
Dana Duodenumu	3 -5	-	-	7.0 - 8.5
Dana Dalağı	44	240	-	6.3
Dana Serumu	3.3	1.1	38	6.5 - 8.5
Tavuk Duodenumu	1.3	26	38	6.5 - 8.0

2.7. Adenozin Deaminaz Aktivatörleri ve İnhibitörleri

ADA'nın hiçbir kofaktörü belirlenemezken enzim katalizi için fosfatın gerektiği düşünülmektedir (Oosthuizen ve ark 1993 ; Colowick ve ark 1978). Bakır (Cu), gümüş (Ag), krom (Cr) ve daha az olarak çinko (Zn), kobalt (Co), nikel (Ni) gibi elementler enzimi inhibe ederler (Giusti 1974).

Adenozin deaminaz, kendi katalizlediği reaksiyonun ürünleri 0 ve çeşitli analogları tarafından inhibe edilebilir. En potent inhibitörler ENHA (Ki, 1.6 x 10⁻⁹M), koformisin (Ki 10⁻¹¹ M) ve

deoksikoformisin (K_i $2.5 \times 10^{-12}M$)'dir. Adenozin monofosfat (AMP), deoksiadenozin monofosfat (dAMP), siklik adenozin monofosfat (cAMP), deoksiadenozin di fosfat (dADP), adenozin trifosfat (ATP) gibi bileşikler inhibisyon göstermezler. 4-amino-5-imidazol karboksamid ribonükleozid, 4-amino-5-imidazol karboksamid-HCL, 6-kloropürin, iodopürin ve adenin % 15-60 arasında inhibisyona yol açarlar (Colowick ve ark 1978).

2.8. Adenozin Deaminaz ve Kanser

Kanser hücreleri, değişime uğramış hücrelerdir ve biyokimyasal programları normal hücrelere göre farklılık göstermektedir. Bunun sonucunda, devamlı olarak büyür ve hızla çoğalırlar. Bu kontrolsüz büyüme ve çoğalma, kanser hücrelerinin kendi konakçılarının ölümüne yol açar (Welsch 1985).

Kanser hücrelerinde DNA turn-over' inin çok yüksek olması, salvage arayoluna gerekli olan substratların çok fazla miktarda teşekkül etmesine yol açar. Gerçekten kanser hücrelerinde metabolik yolda görev alan enzimlerin aktivitelerinin de büyük oranda arttığı tespit edilmiştir. Bu ara yolda görev alan enzimlerin en önemlilerinden biri de Adenozin Deaminaz' dır (Durak ve ark 1996; Durak ve ark 1994).

Kanser hücrelerinin biyokimyasal yapısı normale göre farklıdır. Deneysel olarak yapılan çalışmalarda kanser hücrelerindeki genetik programda değişiklik olduğu ortaya konulmuştur. Bunun sonucunda,

sentetik ve katabolik yolları kontrol eden anahtar enzimlerin aktivitelerinde değişiklikler ortaya çıkmaktadır (Welsch 1985; Durak ve ark 1993; Akyol ve ark 1995)

ADA aktivitesi, hızlı bölünen hücrelerde bölünmeyen hücrelere oranla daha fazladır. Tümörü bulunan hayvanlarda ve bronşial karsinomlu hastalarda serum ADA aktivitesinin yükseldiği gösterildikten sonra malign hastalıklarda serum ADA aktiviteleri çalışılmış ve malign grupta ADA aktivitesinin belirgin yüksek olduğu, fakat nonspesifik olduğu gözlenmiştir. Özellikle lösemi ve lenfomada ADA aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir(Goldgerg 1965; Maeda ve ark. 1992).

Adenozin Deaminaz özellikle adenozin yıkılışında yol aldığı ve salvage yola substrat sağladığı için bazı yazarlar tarafından pürin salvage yolu enzimi olarak düşünölmüştür. Özellikle hücre siklusu hızlanmış olan kanser hücresinin DNA sentezi için normal hücreye göre daha fazla nükleotide ihtiyaç vardır. Pürin nükleotidlerinin yeniden elde edilmesinde ise en avantajlı yol pürinlerin salvage yoludur . Kanser hücresinde bu yolu kontrol eden esas enzim olan hipoksantin – guanin fosforibasil transferaz enziminin yanı sıra 5' nükleotidaz ve ADA' nın aktivitesinin normale göre arttığı bir çok araştırmada gösterilmiştir. Buna karşılık bazı araştırmacılar ise ADA' yı yıkım yolunun bir enzimi olarak değerlendirmektedir. Kanser hücresinin karakteristik davranışı pürin yıkım yolunun baskılanıp salvage yolunun artırılmasıdır. Değişik kanser türlerinde ADA aktivitesini düşük olarak bulan araştırmacılar ise bu durumu yıkım

yolunun baskılanması çabasına bir örnek olarak düşünmektedirler (Durak ve ark. 1993).

Bunun yanı sıra ADA özellikle kanser kemoterapisi açısından da önemli bir enzimdir. Bir kemoterapötik ajan olan ve ADA' yı inhibe eden deoksiformisin kullanıldığında kanser hücrelerinin bu durumdan etkilendiği gözlenmiştir (Bemi ve ark 1998).

ADA' nın deoksiformisin ile inhibisyonu durumunda ortamda biriken molekül ADA' nın substratı olan adenzindir. Artan adenzin özellikle hücre içerisinde ATP ve dATP' ye çevrilmektedir. Artan dATP düzeyleri ise hücre içerisinde çok önemli yere sahip olan ve nükleotidlerin deoksi formunu katalizleyen ribonükleotid reduktazı inhibe etmektedir. Bu olay da doğrudan DNA sentezini etkilemektedir.

ADA inhibisyonuna bağlı olarak artan adenzin ayrıca s-adenozil hidrolaz enzimini bloke etmekte ve bu durumdan hücreyel metilasyon reaksiyonları etkilenmektedir. Bahsedilen bu iki mekanizma özellikle hücreyel siklusu hızlanmış olan kanser hücrelerinin kontrolü ve kanser kemoterapisi açısından önemlidir.

ADA aktivitesinin araştırıldığı kanser doku ve hücrelerinde çok farklı sonuçlar vardır. Koizomi ve ark. (1985) cilt kanserlerinde yüksek ADA aktivitesini rapor etmişlerdir. Yine Sufrin ve ark. (1978) safra kesesi kanseri olan hastaların kanser dokularında tespit ettikleri yüksek ADA aktivitelerini bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra

Durak ve ark. (1993) insan larinks kanserlerinde ADA aktivitesini komşu sağlam dokuya göre daha düşük tespit etmişlerdir.

Daha önce de belirtildiği gibi malign hücredeki gen yapısının yeniden düzenlenmesi sonucu normal hücredeki enzim profili değişime uğramaktadır. Kanserli hücrelerdeki enzim aktivitelerinin ölçülmesi, değişime uğrayan malign hücredeki yeni programlar hakkında bizlere bilgi vermektedir. Bu enzim aktivitelerinin artışı veya azalışı, kanser hücresindeki yeniden programlanmış genetik bilginin bir göstergesi olması açısından önemlidir..



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Çalışmamızda Sağlık Bakanlığı Demetevler Onkoloji Hastanesi K.B.B Kliniğinde yatan ve tedavi amacıyla opere edilen 8 larinks kanserli ve 7 maksilla kanserli hastadan operasyon sırasında alınan kanser dokusu ve cerrahi sınıra ait sağlam kontrol dokusu kullanıldı. Bu iki hasta grubu haricinde Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı polikliniğine kronik total protez irritasyonu sonucu gelişmiş oral mukozaya ait fibröz hiperplazik kitlelerin eksizyonu için başvurmuş 10 hastadan elde edilen dokular kontrol grubu olarak kullanıldı.

3.2. Seçilen Hasta Grupları

Larinks kanserlilerin oluşturduğu gruptaki 8 hastanın yaşları 40 ile 83 arasında değişmektedir. Hastaların hepsi erkektir ve 25-30 yıllık 1 paket/gün sigara ve nadiren de alkol kullanıcısıdır. 8 hastada yassı hücreli kanserdir. Kanserlerin beşi orta diferansiye, üçü iyi diferansiyedir. Hastaların hiçbiri daha önce cerrahi tedavi görmemiştir.

Maksilla kanserlilerin oluşturduğu gruptaki 7 hastanın dördü erkek, üçü bayandır ve yaşları 35 ile 72 arasındadır. Dört hasta 1 paket/gün gün sigara ve nadiren de alkol kullanıcısı iken üç hasta

sigara ve alkol kullanmamaktadır. Hastaların üçü yassı hücreli kanser, ikisi malign lenfoma ve ikisi de adenokistik karsinomadır. Hastaların hiçbiri daha önce cerrahi tedavi görmemiş fakat malign lenfoma hastaları operayona karar verilmeden önce kemoterapi görmüşlerdir. Hastaların hepsine hemimaksillektomi uygulanmıştır.

Üçüncü grup ise total protez kullanan ve oral mukozalarında kronik protez irritasyonuna bağlı olarak gelişmiş fibröz hiperplazik dokuların eksizyonu için başvuran 10 hastadan oluşmaktadır. Yaşları 42 ile 66 arasındadır. Hastaların beşi erkek ve beşi de bayandır. Hastaların yedisi 20-25 yıldır 1 paket/gün sigara kullanmakta ve nadiren de alkol almaktadır. Üç hasta ise alkol ve sigara kullanmamaktadır.

3.3. ADA Aktivitesinin Tayini

Literatürde ADA aktivitesinin tayini için değişik metodlar kullanılmıştır. Bunlardan bazılarının prensipleri aşağıda verilmiştir

1. Adenozinin C^{14} ve H^3 gibi radyoaktif maddelerle işaretlenip, işaretli adenozinin ADA etkisiyle inozine dönüşümün radyokimyasal olarak ölçülmesi (Grever ve ark 1983; Ho ve ark 1986; Koya ve ark 1981; Renouf ve ark 1987; Weyden ve ark 1976).

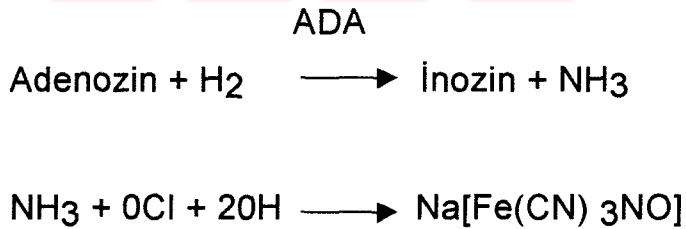
2. ADA'nın katalizlediği reaksiyonda adenozinin inozine değişmesi esnasında meydana gelen optik dansite (265 nm) azalışının spektrofotometrik olarak takip edilmesi (Edwards ve ark 1979).

3. ADA'nın katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan NH₃ miktarının ölçülmesi

Çalışma şartlarımıza uygunluğu ve tekrarlanabilirliği açısından Giuseppe Giusti 1974 tarafından tarif edilen metod seçilmiştir. Bu metodun prensibi ortamda oluşan NH₃ miktarının ölçülmesine dayanmaktadır.

3.4. Metodun Prensibi

ADA aşağıda gösterildiği şekilde adenozinden inozin oluşumunu katalize eder. Bu esnada amonyak açığa çıkar. Açığa çıkan amonyak, sodyum hipoklorid ve alkali ortamda fenol çözeltisiyle mavi renkli indofenol bileşiğine çevrilir. Bu reaksiyonda sodyum nitroprussiyat katalizör olarak görev yapar. Amonyak konsantrasyonu oluşan indofenol ile orantılıdır.



3.5. Reaktifler

Reaktiflerin hepsinin amonyaksız su ile hazırlanması gerektiği için tridistile su kullanılmıştır.

1. Fosfat Tamponu (50mM, pH= 6.5) 4.73 gr $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve 5.62 gr $\text{NaHPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ tridistile çözülür ve hacim 1000 ml'ye tamamlanır.

2. Adenozin çözeltisi (21 mM Adenozin, 50 mM Fosfat Tamponu Ph 6.5): 25'lik bir balon jojeye 140 mg adenozin konulup üzerine 15 ml. fosfat tamponu ilave edildikten sonra sıcak su banyosuna yerleştirilir. Ara sıra karıştırılarak tamamen çözülünceye kadar sıcak su banyosunda bekletilir. Sonra musluk suyu altında soğutulur. pH'sı 6.5'a ayarlanır ve Fosfat tamponu ile 25 ml'ye tamamlanır.

3. Amonyum Sülfat stok çözeltisi (15 mM): 1982 g anhidr amonyum sülfat, tridistile su ile çözülerek hacim 1000ml'ye tamamlanır.

4. Amonyum Sülfat Standart çözeltisi (75 mM, 0.15 mmol/ml NH_3): 0.5 ml. amonyum sülfat standart çözeltisinden alınıp fosfat tamponuyla 100 ml'ye tamamlanır.

5. Fenol-Nitroprussiyat çözeltisi (106 mM Fenol, 0.17 mM Na nitroprussiyat) : 10 gr fenol ve 50 mg Na nitroprussiyat 500ml tridistile suda çözülür ve hacim 1000 ml'ye tamamlanır.

6. Alkali Hipoklorit çözeltisi (11mM NaOCl , 125 mM NaOH): 125 ml 1N NaOH ve 16.4 ml % 5 hipoklorit çözeltisi karıştırılıp hacmi

1000 ml'ye tamamlanır. (Kullanılan ticari hipoklorit çözeltisi yaklaşık % 5 w/v NaOCl ihtiva etmektedir. Bundaki klor miktarı tayin edilerek % 5 Klor bulunduran çözelti hazırlanmış ve bu çözelti kullanılmıştır.

3.6. Deneyin Yapılışı

ADA aktivitesinin tayini için aşağıdaki deney şeması uygulanmış ve reaktifler sırayla ilave edilmiştir.

Reaktifler (ml)	Standart Körü	Standart	Numune körü	Numune
Fosfat tamponu	1.0	-	-	-
Tamponlanmış Adenozin çözeltisi	-	-	1.0	1.0
Amonyum Sülfat Standart Çözeltisi	-	1.0	-	-
Numune	-	-	-	0.5
Tridistile Su	0.05	0.05	-	-

Tüpler karıştırılıp ağızları parafinle kapatılır ve 37 °C su banyosunda 60 dakika inkübe edilir.

Reaktifler (ml)	Standart K�r�	Standart	Numune k�r�	Numune
Fenol nitroprussiyat �zeltisi	3.0	3.0	3.0	3.0
Numune	-	-	0.05	-
Alkali Hipoklorit �zeltisi	3.0	3.0	3.0	3.0

Tüpler karıştırılıp 37 ° C da su banyosunda 30 dakika inkübe edilip 628 nm. de distile suya karşı okunur

Bütün  zeltiler 0-4 ° C muhafaza edilmelidir. 3 ve 5 nolu reaktifler kahverengi şişede saklanmalıdır. 5 nolu reaktifin rengi yeşil veya kahverengiye dönerse yeniden hazırlanmalıdır. Absorbans 1.00'in üstüne  karsa tridistile su ile 2-5 kez seyreltilerek deney tekrarlanmalıdır.

Hesaplama

$$\text{ADA Aktivitesi} = \frac{\text{OD (Numune)} - \text{OD (Numune K\u00f6r\u00fc)}}{\text{OD (Standart)} - \text{OD (Standart K\u00f6r\u00fc)}} \times 50 = \text{U/L}$$

$$\text{Spesifik Aktivite (SA)} = \frac{\text{Enzim Aktivitesi (U/L)}}{\text{mg protein} \times 1000}$$

B\u00fct\u00fcn aktivite \u00e7alışmaları bekleme sırasında meydana gelebilecek hatalar g\u00f6z\u00f6n\u00fcne alınarak hemen yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Maksilla Kanseri Grubu Sonuçları

Maksilla kanseri olan ve bu nedenle opere edilen yedi hastanın kanser numunelerinde ölçülen ADA enzim aktivitesinin spesifik aktivite (Ü/mg Protein) cinsinden değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2 :

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	ADA Spesifik Aktivite (Ü/mg Protein)
1.	A.Ö.	50 / E	Aktivite yok
2.	T.Ç.	35 / B	0.009114
3.	M.E	55 / E	0.015995
4.	H.S.	63 / B	0.061097
5.	A.K.	63 / E	Aktivite yok
6.	A.D.	72 / E	0.003485
7.	F.E.	71 / B	0.070263

4.2. Maksilla Kontrol Grubu Sonuçları

Maksilla kanseri nedeniyle opere edilen hastaların cerrahi sınırından alınan sağlam kontrol dokularında ölçülen ADA enzim aktivitesinin spesifik aktivite (Ü/mg protein) cinsinden değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3 :

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	ADA Spesifik Aktivite Ü/mg protein
1.	A.Ö.	50 / E	0.000366
2.	T.Ç.	35 / B	0.024543
3.	M.E	55 / E	0.059242
4.	H.S.	63 / B	0.002408
5.	A.K.	63 / E	Aktivite Yok
6.	A.D.	72 / E	Aktivite Yok
7.	F.E.	71 / B	0.003649

4.3. Larinks Kanseri Grubu Sonuçları

Larinks kanseri nedeniyle opere edilen sekiz hastadan alınan kanser dokusuna ait numunelerde ölçülen ADA enzim aktivitesi spesifik aktivite cinsinden değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4:

No	İsim	Yaş/Cinsiyet	ADA Spesifik Aktivite (Ü/mg protein)
1.	A.Ö.	45 / E	0.037183
2.	D.D.	40 / E	0.006226
3.	M.A.	50 / E	Aktivite Yok
4.	C.A.	83 / E	0.022723
5.	F.U.	65 / E	Aktivite Yok
6.	S.G.	50 / E	0.556872
7.	H.S.	55 / E	0.025857
8.	C.O.	50 / E	0.003649

4.4. Larinks Kontrol Grubu Sonuçları

Larinks kanseri nedeniyle opere olan hastaların larenjektomi sonrası cerrahi sınırlarından alınan sağlam dokulara ait ADA enzim aktivitesinin spesifik aktivite cinsinden değerleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5:

No	İsim	Yaş/Cinsiyet	ADA Spesifik Aktivite (Ü/mg protein)
1.	A.Ö.	45 / E	0.021722
2.	D.D.	40 / E	0.015253
3.	M.A.	50 / E	0.014062
4.	C.A.	83 / E	Aktivite Yok
5.	F.U.	65 / E	0.07471
6.	S.G.	50 / E	0.019528
7.	H.S.	55 / E	0.0064
8.	C.O.	50 / E	0.002299

4.5. Fibröz Hiperplazi Grubu Sonuçları

Kronik total protez irritasyonuna bağlı olarak gelişen oral mukozaya ait fibröz hiperplazik kitlelerin eksizyonu ile elde edilen dokuların ADA enzim aktivitesinin spesifik aktivite (Ü/mg protein) olarak değerleri Tablo 6’te verilmiştir.

Tablo 6:

No	İsim	Yaş / Cinsiyet	ADA Spesifik Aktivite (Ü/mgprotein)
1.	Y.A.	61 / B	0.036032
2.	Y.V.	62 / E	Aktivite Yok
3.	H.Z.	66 / E	0.024899
4.	M.İ.	61 / E	0.001185
5.	M.Y.	42 / B	0.001693
6.	A.C.	50 / E	0.022081
7.	S.S	45 / B	0.040028
8.	H.Ç.	50 / B	0.003775
9.	A.U.	50 / E	Aktivite Yok
10.	A.K.	46 / B	0.00153

4.6. Gruplar Arası İlişkinin İstatistiksel Analizi

Grupların Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Gruplar	ADA SA (Ü/mg protein) $X \pm SD$
Maksilla Kanseri (I) n = 7	0,022851± 0,02990
Maksilla Kontrol (II) n = 7	0,012887± 0,1135
Larinks Kanseri (III) n = 8	0,081564± 0,19254
Larinks Kontrol (IV) n = 8	0,019247± 0,02375
Fibröz Hiperplazi (V) n = 10	0,013122± 0,016

Gruplar Arası İlişkinin "Mann – Whitney U" Testi ile Yapılan İstatistiksel Analiz Sonuçları

I – II	Anlamsız
III – IV	Anlamsız
I – V	Anlamsız
II – V	Anlamsız
II – IV	Anlamsız
II – V	Anlamsız
IV – V	Anlamsız

Anlamsız : $p > 0.05$

5. TARTIŞMA

Kanser hücreleri kendi özel programlarına sahip, hücreyel metabolizmasını değiştirmiş özelleşmiş hücrelerdir. Bu özelleşme içerisinde, genetik programın değişiminin yansımalarının en iyi göstergelerinden bir tanesinde enzim aktivitelerindeki değişimlerin takibidir.

Kanser hücresi özellikle nükleik asitlere olan ihtiyacından dolayı pürin-pirimidin metabolizmasında önemli ölçüde değişikliğe uğratmıştır. Kanser hücresinin genel davranış biçimlerinden birisi de-novo ve salvage yolun enzim aktivitelerini artırırken buna karşılık yıkım yolu enzimlerini baskılamaya çalışmaktadır (Weber ve ark 1983 ; Natsumeda ve ark 1984 ; Natsumeda ve ark 1985).

Pürin metabolizması açısından salvage yolun esas enzimi olan hipoksantin guanin fosforibazil transferaz enziminin aktivitesini kanserli hücrelerde genel olarak artmış olarak bulunmuştur (Camici ve ark 1990; Weber ve ark 1983 ; Natsumeda ve ark 1994; Prajda ve ark 1976). Bu davranış biçimi kanser hücresinin nükleik asitlere olan ihtiyacının bir yansımasıdır.

Salvage yolun kullanılarak tek basamakla bazların (Hipoksantin ve Guanin) kendilerine uyan nükleotidlere çevrilmesi (IMP ve GMP) nükleotid havuzunun korunması açısından kanser hücresinin bir avantajıdır.

Genel kabul olarak HGPRT'nin salvage yol kabul edilmesine rağmen bir çok çalışmada 5'nükleotidaz (5'NT), Adenozin Deaminaz (ADA), Pürin Nükleotid fosforilaz (PNP) enzimleri de salvage yol enzimi olarak kabul edilmektedirler. Buna karşılık 5'NT, ADA, PNP enzimlerini yıkım yolu enzimi olarak kabul eden çalışmalara da rastlanmaktadır. Bu durum hücre tipine veya kanser tipine göre farklılıklar göstermektedir.

Adenozin deaminaz pürin metabolizmasında anahtar rolü olan bir enzimdir. Katalizlediği reaksiyon sonucunda adenozin veya deoksiadenozinden inozin veya deoksiinozin oluşturmaktadır. Bu deaminasyon reaksiyonu tek yönlü olup bu metabolizma için hız kısıtlayıcı olarak görülmektedir.

Kanserli hücrelerde veya dokularda adenozin deaminazın aktivitesinin değişimini inceleyen birçok araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmaların sonucunda üç değişik sonuçla karşılaşmak mümkün olmaktadır. Bir kısım araştırmacılar kanser hücresinde ADA aktivitesinin arttığını ve bunun kanser için yeni bir düzenleme olduğunu öne sürmektedirler. (Sufrin ve ark 1978 ; Koizumi ve ark 1984 ; Camici ve ark 1990 ; Durak ve ark 1994; Durak ve ark 1994; Durak ve ark 1997)

Bu araştırmacılar mesane, cilt ve meme kanserli bazı hastalarda ADA artışının salvage yola substrat sağlanması açısından önemli olduğunu öne sürmektedirler. Bu kanser türlerinde artmış ADA aktiviteleri sonucu oluşan inozin PNP tarafından

hipoksantine çevrilmekte ve hipoksantin ise HGPRT tarafından salvage yola sokularak IMP oluşumunda kullanılmaktadır.

Buna karşılık bazı çalışmalarda ise baş-boyun kanserlerinde ve mide kanserli hastaların lenfositlerinde ve larinks kanserlerinde ADA aktivitelerinin düşük olduğu tespit edilmiştir.(Dasmahapatra ve ark 1985 ; Kojima ve ark 1985 ; Durak ve ark 1993)

Bu durum yukarıda adı geçen kanser türlerinde nükleotid havuzunu korumanın bir yolu olarak düşünülmüştür. ADA aktivitesinin kanserli hastalarda düşüklüğünü tespit eden araştırmacılar bu enzimin pürin metabolizmasında ksantin oksidaz gibi bir yıkım yolu enzimi olarak çalıştığını öne sürmektedirler.

Bizim çalışmamızda maksilla kanseri ve larinks kanseri hastalarında doku seviyelerinde ADA aktivitesi ölçülmüştür. Çalışmamızda kanserli hastaların dokularında enzim tayini yapılırken iki farklı doku kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Maksilla ve larinks kanserli hastaların cerrahi sınırlarından alınan dokular ve fibröz hiperplazi teşhisi konmuş hastaların dokuları çift kontrol olarak kullanılmıştır. Cerrahi uygulamaların bir kısmında kanserli doku çıkarılırken histopatolojik olarak sağlam olduğu tespit edilen doku ise bırakılmaktadır. Kanserli dokuya komşu doku histopatolojik veya cerrahi olarak benign kabul edilse bile bu dokunun hücresel seviyede enzimatik değişiminin ne olduğu hastalığın metabolizması açısından önemlidir. Özellikle yapılan bazı çalışmalarda kanserli dokuya komşu dokunun pürin metabolizması enzimleri açısından

kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kontrole göre değişiklikler gösterdiği bulunmuştur. Durak (1994) mesane kanserinde kanserli dokudaki enzim aktivitesinin komşu dokuya göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durum özellikle normal, kanser ve kansere komşu dokudaki enzim aktivitelerini yansıması açısından önemlidir.

Çalışmamızda maksilla kanserli hastaların kansere komşu dokularındaki enzim aktivite değerleri kanser grubuna göre daha düşük bulunmasına rağmen bunun istatistiksel bir anlamı bulunmamaktadır.

Larinks kanserinde ise kansere komşu dokulardaki ADA aktivitesi kanserli dokuya göre yine düşüklük göstermesine rağmen yine istatistiksel bir anlamlılık bulunmamaktadır.

Kontrol grubu olarak kabul edilen fibröz hiperplazili hastaların doku ADA aktiviteleri ile maksilla kanserli hastaların ve larinks kanserli hastaların kansere komşu dokularındaki ADA aktiviteleri benzer değerler yansıtmaktadırlar. Fibröz hiperplazili hastaların doku ADA aktiviteleri, maksilla kanserli ve larinks kanserli hastaların doku enzim değerlerine göre daha düşük bulunmuştur. Fakat bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Bulduğumuz bu sonuçlar özellikle Camici ve arkadaşlarının (1990) yapmış olduğu kanser ve enzim ilişkisini gösteren çalışmadaki bazı sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu araştırmada meme kanserinde ADA ve PNP aktivitesini artmış

olarak bulurken buna karşılık PNP'yi barsak kanserinde yüksek olarak ADA aktivitesini ise kontrole göre değişmemiş olarak bulmuşlardır.

Bu araştırmada ve literatürdeki diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi kanserde ADA aktivitesi açısından bir genelleme yapmak mümkün değildir.

Bizim çalışmamızda enzim aktivitelerinin istatistiksel olarak anlam ifade etmese bile fibröz hiperplazi hasta grubunda kansere göre düşüklük göstermesi bu iki kanserde ADA'nın bir salvage yol enzimi olma eğilimi taşıdığıdır.

Kanserli hastalarda ADA aktivitesi açısından bir genelleme yapmak yerine aynı kanser türlerinde bir genelleme yapmak daha spesifik bilgiler sağlayabilir. Bu konuda yapılan çalışmalar ile aynı kanser türlerinde benzer sonuçların elde edilmesi ve bir genelleme yapılması o kanser türünde pürin metabolizmasında rol alan enzimlerin davranış biçiminin anlaşılmasına yol açacaktır.

Enzimlerle ilgili bilgilerin bu şekilde birikmesi ve genel bir görüşün kabul edilmesi klinisyene hastalığın teşhisinde, remisyonun devamında yardımcı olabileceklerdir. Ayrıca kanserde enzimlerle ilgili bu tür genel kabullerin ortaya konulması hastalığın tedavisinde kullanılacak antimetabolitlerin bulunmasına ve bunların tedavide kullanılmasına imkan sağlayabilir.

Bu konuda daha detaylı ve daha geniş çalışmaların yapılması konunun aydınlatılmasına katkılarda bulunacaktır.



6. SONUÇLAR

Çalışmamızda maksilla kanserli ve larinks kanserli hastaların doku seviyelerinde ADA enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Kanserli hastaların dokularında enzim tayini yapılırken iki farklı doku kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Maksilla ve larinks kanserli hastaların cerrahi sınırlarından alınan dokular ve fibröz hiperplazi teşhisi konmuş hastaların dokuları çift kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Çalışmamızda maksilla kanserli hastaların kansere komşu dokulardaki enzim aktivite değerleri kanser grubuna göre daha düşük bulunmasına rağmen bunun istatistiksel bir anlamı bulunmamıştır.

Larinks kanserli grupta ise kansere komşu dokulardaki ADA aktivitesi kanserli dokuya göre yine düşüklük göstermesine rağmen istatistiksel bir anlamlılık bulunmamıştır.

Kontrol grubu olarak kabul edilen fibröz hiperplazili hastaların doku ADA aktiviteleri ile maksilla kanserli hastaların ve larinks kanserli hastaların kansere komşu dokularındaki ADA aktiviteleri benzer değerler yansıtmaktadırlar. Fibröz hiperplazili hastaların

doku ADA aktiviteleri, maksilla kanserli ve larinks kanserli hastaların doku enzim değerlerine göre daha düşük bulunmuştur. Fakat bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Bizim çalışmamızda enzim aktiviteleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlam ifade etmese bile fibröz hiperplazi hasta grubunda kansere göre düşüklük göstermesi bu iki kanserde ADA'nın bir salvage yol enzimi olma eğilimi taşıdığıdır.



7. ÖZET

Adenozin Deaminaz (ADA), adenozinin veya deoksiadenozin inozin veya deoksiinozine hidrolitik deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir. ADA tarafından katalizlenen reaksiyonun irreversible olmasından dolayı bu enzim reaksiyonu adenozin degradasyonuna oran kısıtlayıcı basamaklardan biri olarak görülmektedir.

ADA bazı araştırmacılar tarafından pürin yolu enzimi olarak kabul edilirken, bir kısım araştırmacılar ise ADA'nın pürin salvage yolunun bir enzimi olduğunu düşünmektedirler.

Bu araştırmada baş-boyun bölgesi kanseröz ve non-kanseröz dokularında Adenozin Deaminaz enzim aktivitesi incelenmiştir. 8 larinks kanserli ve 7 maksilla kanserli hastadan operasyon sırasında alınan kanser dokuları ve cerrahi sınıra ait sağlam dokular kullanılmıştır. Ayrıca ikinci bir kontrol grubu oluşturmak amacıyla 10 hastadan elde edilen oral mukozaya ait fibröz hiperplazik dokular da kullanılmıştır.

Her iki kanser grubundaki ADA enzim aktiviteleri cerrahi sınırlara ait kontrol dokularına göre daha yüksek tespit edilmesine rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı zamanda fibröz hiperplazik dokulardaki enzim aktiviteleri her iki kanser grubuna göre daha düşük bulunmakla beraber aralarındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Bu araştırmada ve literatürdeki diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi kanserde ADA enzim aktivitesi açısından bir genelleme yapmak mümkün değildir.



8. SUMMARY

Adenosine Deaminase (ADA) is an enzyme catalyzing hydrolytic deamination of either adenosine or deoxyadenosine to inosine or deoxyinosine, respectively. Because of the irreversibility of the reaction catalyzed by ADA, this enzyme reaction seems to be one of the rate limiting steps in adenosine degradation.

Some researchers believe ADA to be a purine enzyme and some others consider it to be a purin salvage pathway enzyme.

In this study we investigated the activity of Adenosine Deaminase enzyme in cancerous and non cancerous tissues of head and neck. We used the cancerous tissues and surgical margins of 8 larynx cancer patients and 7 maxilla cancer patients. Second control group consisted of fibrous hiperplastic tissues of 10 patients who had gone under preprosthetic surgery.

The ADA enzyme activities in both cancer groups were found to be higher than the control group, though this difference was not statistically significant. Similarly, the ADA enzyme activities of

fibrous hiperplastic tissues were lower than the two cancer groups but not statistically significant.

This study and other studies in literature shows that, it is not possible to generalize the activity of ADA enzyme in the cancer.



9. KAYNAKLAR

- AKYOL, Ö., ARSLANOĞLU, R., DURAK, İ. (1995) Activities of free radical and DNA turn-over enzymes in cancerous and non -cancerous brain tissues. *Redox Report* **1**,255-259
- BAGANHA, M.F., PEGO, A., LIMA, M.A., GASPARGAR, E.U., PHARMA, B.(1990) Serum and plevral adenosine deaminase correlation with lymphocytic populations. *Chest* **97**: 605-610.
- BALIS, M.E. (1985) Adenosine deaminase and malignant cells. *Annals Newyork Academy of Sciences* **45**: 142-149.
- BEMI, V., TAZZNI, N., BANDITELLI, S., GIORGELLI, F., PESI, R., TURCHI, G., MATTANA, A., SGARRELLA, F., TOZZI, M.G., CAMICI, M. (1998) *Int. J. Cancer Mar* **2**; 75(5): 713-20
- BONDY, D., BONDY, P., FREINSTEIN, A., FISHMAN, A.. (1985) The Merck Manuel Teşhis ve Tedavi El Kitabı. 4. Baskı, Merck Yayıncılık, s: 860-866
- BOYER, P.D. (1971) *The Enzymes. Volume 4. Academic Press Inc.* s: 54-56
- CANBOLAT, O., DURAK, İ., ÇETİN, R., KAVUTÇU, M., DEMİRCİ, S., ÖZTÜRK, S. (1996) Activities of adenosine deaminase, 5'nucleotidase, guanase and cytidine deaminase enzymes in cancerous and non-cancerous human breast tissues. *Breast Cancer Research and Treatment* **37**: 189-193

- CAMICI, M., TOZZI, M.G., ALLEGRINI, S., DEL CORSO, A., SANFILIPPO, O., DAIDONE, M.G., DE MARCO, C., IPATA, P.L. (1990) Purine salvage enzyme activities in normal and neoplastic human tissues. *Cancer Biochem. Biophys.* Vol. **11** pp:201-209
- CHOTFINER, E.G., CLOFT, H.J., TARTAGLIA, A.P., MITCHELL, S.B. (1987) Elevated adenosine deaminase activity and hereditary hemolytic anemia *J. Clin. Invest.* **79**: 1001-1005
- COLOWICK, S.P., KAPLAN, N.O., HOFFEE, P.A., JONES, M.A. (1978) *Methods in Enzymology.* Academic Press Inc. Volume 1 pp:502-506
- DASMAHAPATRA, K.S., FACS, H.Z.H., DASMAHAPATRA, A., SUAREZ, S. (1986) Evaluation of adenosine deaminase activity in patient with head and neck cancer. *Journal of Surgical Research* **40**: 363-373
- DISSING, J., KAUDSEN, B. (1972) Adenosine deaminase deficiency and combined immunodeficiency syndrome. *Lancet* **2**: 1316
- DORNAND, J., BONNAFOUS, J.C., FAVERO, J., MANI, J.C. (1982) Ecto 5'nucleotidase and adenosine deaminase activities of lymphoid cells. *Biochemical Medicine* **28**: 144-156
- DURAK, İ., İŞİK, A.C.Ü., CANBOLAT, O., AKYOL, Ö., KAVUTÇU, M. (1993) Adenosine deaminase, 5'nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in cancerous and non-cancerous human laryngeal tissues. *Free Radical Biology & Medicine* Vol. **15**, pp.681-684

DURAK, İ., PERK, H., KAVUTÇU, M., CANPOLAT, O., AKYOL, Ö., BEDÜK, Y. (1994) Adenosine deaminase, 5'nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dimutase, and catalase activities in cancerous and non-cancerous human bladder tissues. *Free Radical Biology & Medicine* Vol. **16**, NO. 6 pp. 825-831

DURAK, İ., ÇETİN, R., CANBOLAT, O., ÇETİN, D., YURTASLANI, Z., ÜNAL, A. (1994) Adenosine deaminase, 5'nucleotidase, guanase and cytidine deaminase in gastric tissues from patients with gastric cancer. *Cancer Lett* **15**; 84(2): 199-202

DURAK, İ., BEDÜK, Y., KAVUTÇU, M., SÜZER, O., YAMAN, Ö., ÖZTÜRK, S., CANBOLAT, O., ULUTEPE, S. (1997) Activity of the enzymes participating in purine metabolism of cancerous and noncancerous human kidney tissues. *Cancer Investigations*, **15**(3), 212-216

EDWARDS, N.L., GELFAND, E.W., BURK, L., (1979) Distribution of 5'nucleotidase in human lymphoid tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**(7): 3474-3476

ELLIS, G., GOLDBERG, D.M. (1970) A reduced nicotinamide adenin dinucleotide-linked kinetic assay for adenosine deaminase activity. *Journal of Laboratory Clinical Medicine* **76**(3) : 507-517

GIUSTI, G. (1974) Adenosine Deaminase. Bergmeyer H.U. Ed. Methods of Enzymatic Analysis 3rd. English Ed. Academic Press New York 1092-1099

GOLDBERG, D.M. (1965) Serum adenosine deaminase in the differential diagnosis of jaundice. *British Medical Journal*, **1**: 353-355

- GREVER, M.R., COLEMAN, M.S., BALCERZAK, S.P. (1983) Adenosine deaminase and terminal deoxynucleotidyl transferase : Biochemical in the management of chronic myelogenous leukemia. *Cancer Research* **43**: 1442-1445.
- HO, A.D., DÖRKEN, B., MA, D.D.F.(1986) Purine degradative enzymes and immunological phenotypes in chronic B-Lymphocytic leukemia: Indication that leukemic immunocytoma is a separate entity. *British Journal of Haematology* **62**: 545-555
- HO, A.D., GANESHAGURU, K. (1988) Enzymes of purine metabolism in lymphoid neoplasms, clinical relevance for treatment with enzyme inhibitors. *Klin. Wochenscher* **66**: 467-474
- KOIZUMI, H., LIZUKA, H., AOYAGI, T., MIURA, Y. (1985) Characterization of adenosine deaminase from normal human epidermis and squamous cell carcinoma of the skin. *The Journal of Investigative Dermatology* **84**: 199-202
- KOJIMA, O., MAJIMA, T., UEHARA, Y., YAMANE, T., FUJITA, Y., TAKAHASHI, T., MAJIMA, S. (1985) Alteration of adenosine deaminase levels in peripheral blood lymphocytes of patients with gastric cancer. *Japanese Journal Surgery* **15**: 130-133
- KOYA BY, M., KANO, T., SAWADA, H. (1981) Adenosine deaminase and ecto 5' nucleotidase activities in various leukemias with special reference to blast crisis: Significance of ecto5'nucleotidase in lymphoid blast crisis of chronic myeloid leukemia. *Blood* **58**(6): 1107-1111

- LIZUKA, H., KOUZUMI, H., KAMIGAKI, K., AOYAGI, T., MIURA, Y. (1981) Two forms of adenosine deaminase in pig epidermis. *J.Dermatol* **8**: 91-95
- MAEDA, K., MORITA, K., SHIBATA, T., NAITO, Y., MIZUNO, A. (1992) Simultaneous assay of adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activity as possible biochemical means to detect non-Hodgkin lymphomas of the oral cavity. *Cancer Jul* **1**;70(1):20-7
- MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., RODWELL, V.W. (eds) (1986) Harper's Biochemistry. 22 nd Ed. pp: 342-355
- NATSUMEDA, Y., PRAJDA, N., DONOHUE, J.P., GOVER, J.L., WEBER, G. (1984) Enzymic capacities of purine de novo and salvage pathways for nucleotide synthesis in normal neoplastic tissues. *Cancer Res* **44**: 2475-2479
- NATSUMEDA, Y., LUI, M.S., EMRANI, J. (1985) Purine enzymology of human colon carcinomas. *Cancer Research* **45**: 2556-2559
- OOSTHIZEN, H.M., UNGERER, J.P.J., BISSBORT, S.H. (1993) Kinetic determination of serum adenosine deaminase. *Clinical Chemistry* **39** (10): 2182-2185
- POPLACK, D.G., BLATT, J., REAMAN, G. (1981) Purine pathways enzymes abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.* **41**: 4821-4832

- PRAJDA, N., MORRIS, H.P., WEBER, G.(1976) Imbalance of purine metabolism in hepatoma of different growth rates as expressed in behavior of xanthine oxidase (EC 1.2.3.2.) *Cancer Res.* **36**: 2475-2479
- RATECH, H., MARTINIUK, F., BORER, W.Z.. (1988) Differential expression of adenosine deaminase isoenzymes in acute leukemia. *Blood* **72**(5): 1627-1632
- RENOUF, J.A., THONG, Y.H., CHALMERS, A.H. (1987) Activities of purine metabolising enzymes in lymphocytes of neonates and young children: Correlates of immune function. *Immunology Letters* **15**:161-166
- SUMNER, J.B., MYRBACK, K. (1951) *The Enzymes*. Volume 1, Part 2. pp: 981-982, Academic Press. Inc., Newyork
- SURFIN, G., TRITSCH, G.L., MITTELMAN, A., MURPHY, G.Y. (1978) Adenosine deaminase activity in patients with carcinoma of bladder. *Journal of Urology* **119**: 343-346
- TRANGAS, T., COURTIS, N., GOUNARIS, A. (1989) Patterns of adenosine deaminase, ecto5'nucleotidase, poly(A)polymerase and surface light chain expression in chronic lymphocytic leukemias. *Blut.* **58**: 187-193
- TRITSCH, G.L., NISWANDER, P.W. (1985) Purine catabolism as a source of superoxide in macrophages. *Annals New York Academy of Sciences.* **451**: 279-291

- UNGERER, J.P.J., OOSTHUZIEN, H.M., BISSBORT, S.H., VERMAAK, W.J.H. (1992) Serum adenosine deaminase: Isoenzymes and diagnostic application. *Clinical Chemistry* **38**(7): 1322-1326
- VIVES, J.L., ROZMAN, C., PUJADES, M.A. (1988) Combined assay of adenosine deaminase, pürine nucleotidase and lactate dehydrogenase in the early clinical evaluation of B-chronic lymphocytic leukemia. *American Journal of Hematology* **27**: 157-62
- WELSCH, C.W. (1985) Host factors growth of carcinogen-in-duced rat mammary carcinomas: A reviews and tribute to Charles Brenton-Huggins. *Cancer Res.* **45**:3415-3442
- WEYDEN, M.B., VANDER AND KELLEY, W.N. (1976) Human adenosine deaminase. *The Journal Biological Chemistry.* **251**(18): 5448-5456