

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÇEŞİTLİ GÖĞÜS HASTALIKLARINDA BRONŞİAL LAVAJ
SIVISI VE PLAZMADA KSANTİN OKSİDAZ VE ADENOZİN
DEAMİNAZ AKTİVİTELERİ İLE NİTRİK OKSİT VE
MALONDİALDEHİT SEVİYELERİ

T-99013

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İncilay GÖKBULUT

Tez Danışmanı
Doç.Dr. Ömer AKYOL

Malatya, 2000

İÇİNDEKİLER	<u>sayfa</u>
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Akciğer Kanseri	4
2.1.1. Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi	4
2.1.2. Akciğer Kanserinin Etyolojisi	5
2.1.3. Akciğer Kanserinin Patolojisi	6
2.1.4. Klinik Belirtiler	7
2.1.5. Tanı	7
2.2. Pnömoni	7
2.2.1. Toplum Kökenli Pnömoniler	8
2.2.1.1. Klinik Özellikler	9
2.2.1.2. Tanı Yöntemleri	10
2.2.2. Hastane Kökenli Pnömoniler	10
2.2.2.1. Tanı Yöntemleri	10
2.2.3. İmmün Yetmezlikli Şahıslarda Pnömoniler	11
2.2.3.1. Klinik Özellikler	12
2.2.3.2. Tanı Yöntemleri	12
2.3. Nitrik Oksit	12
2.3.1. Nitrik Oksitin Kimyası	13
2.3.2. Nitrik Oksitin Biyosentezi	13
2.4. Adenozin deaminaz	15
2.5. Malondialdehit	15
2.6. Ksantin Oksidaz	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Çalışma grupları (Hastalar ve kontrol grubu)	18
3.2. Kullanılan araç, gereç ve kimyasallar	18
3.3. Yapılan İşlemler	18
3.3.1. Kan numunelerinin hazırlanması.	18
3.3.2. Bronşiol lavaj işlemi	19

3.3.3. Nitrik oksit (NO) miktarının tayini	19
3.3.4. Malondialdehit (MDA) miktarının tayini	20
3.3.5. Adenozin deaminaz (ADA) aktivitesinin tayini	21
3.3.6. Ksantin oksidaz (XO) aktivitesinin tayini	21
3.3.7. İstatistiksel testler	22
4. SONUÇLAR	23
5. TARTIŞMA	27
6. ÖZET	34
7. SUMMARY	35
8. KAYNAKLAR	36
9. TEŞEKKÜR	45



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri Türkiye ve dünyada en sık görülen ölüm sebeplerinden biridir (1). Akciğer kanserleri ile sigara içimi arasında sıkı bir ilişki vardır. Bayanlar arasında sigara içim oranının artmasıyla birinci sıradaki kanser tipi olan meme kanserinin yerini yavaş yavaş akciğer kanseri almaya başlamıştır (2). Akciğer kanserinin etyolojisinde çok çeşitli faktörler vardır. Çevresel, mesleki hatta genetik faktörlere bağlı olarak gelişebilir. Başlıca yassı hücreli, adenokarsinom, küçük hücreli ve büyük hücreli olmak üzere 4 hücreli tipte olduğu bilinmektedir. Çoğunlukla öksürük, hemoptizi, nefes darlığı, ateş, kilo kaybı, göğüs ağrısı gibi semptomlarla doktora başvururlar. Uzak organ metastazları sık görülür ve prognozu kötüdür.

Pnömoni; akciğer parankiminin enfeksiyon ajanları tarafından enflamasyonu ve konsolidasyonudur (3). Akciğerler vücudun, deriden sonra dışarı ile en fazla ilişkide olduğu organdır. Enfeksiyon ajanlarının sayılamayacak kadar fazla olduğu düşünülürse pnömoninin insan sağlığı açısından ne kadar büyük bir tehlike oluşturduğu anlaşılır.

Hem kanser hem de pnömonide akciğer parankim dokusu ve hava yollarında çok çeşitli değişiklikler olmaktadır. Akciğer hastalarında, parankim ve hava yollarında destrüksiyon ve obstrüksiyon nedeniyle oluşan hipoksemi sonucunda dokularda hipoksi ortaya çıkar. Hipoksi ise, lipid peroksidasyonuna yol açar. Bu değişikliklerin değerlendirilmesi akciğer hastalıklarının teşhisine katkıda bulunabilir. Biz bu çalışmada hem bir mediatör hem de serbest radikal olan nitrik oksit (NO) düzeylerini, lipid peroksidasyonunun direkt göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyini, ayrıca ksantin oksidaz (XO) ve adenozin deaminaz (ADA) enzim aktivitelerini bronşial yıkama sıvısında ve plazmada ölçerek, bunun akciğer kanseri ve pnömonide tanıya katkısı olup olmadığını araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AKCİĞER KANSERİ

Akciğer kanserleri tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu olma özelliğini korumaktadır. Günümüzde, akciğer kanserinin de dahil olduğu tüm malign hastalıklarda en önemli problem, kanserin klinik bulguları ortaya çıkmadan önce tedavi edilebilir safhada iken teşhis edilebilmesindeki güçlüktür. Genellikle patognomonik bir semptom ve fizik muayene bulgusu olmaması nedeniyle akciğer kanserli olguların büyük bölümü ileri evrelerde yakalanabilmekte ve bu da mortaliteyi arttırmaktadır (4).

Akciğer kanseri erkeklerde prostat, kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci derece sıklıkla görülen, buna mukabil ölüm oranı her iki cinste de en yüksek olan bir hastalıktır (5). Tanıdan sonra 5 yıl içinde hastaların %90'ı ölür (6). Akciğer kanseri insidansının giderek artması ve yüksek mortalitesi, insan sağlığı açısından önemli bir tehlikeyi yansıtmaktadır. Bu nedenle, son 20 yılda çalışmalar erken tanı ve yeni tedavi yaklaşımları üzerinde yoğunlaşmıştır (7).

2.1.1. Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi

Akciğer kanseri yirminci yüzyılın başlarında nadir olmasına karşın günümüzde önemli bir sağlık sorunudur. Tüm dünyada erkeklerde en sık görülen kanser türüdür. Tüm malign tümörlerin %16'sından, tüm kanser ölümlerinin %28'inden (erkeklerde %35, kadınlarda %19) ve tüm ölümlerin %6'sından sorumludur. Son yıllarda koroner arter hastalıklarından olan ölüm sıklığı azalırken akciğer kanserinden olan ölümler artmaya başlamıştır.

Akciğer kanserli bir hasta tanı konulduğunda 60-70 yaşlarında olan ve genellikle sigara tiryakisi bir bireydir. Diğer yaş grupları da bu hastalıktan etkilenmekle birlikte, ancak %5'i 40 yaşın altındadır. Geçmişte sadece erkeklerde problem olmakla beraber, günümüzde kadınlardaki insidansı hızla artmaktadır. ABD'de 1994 yılında toplam 170,000 yeni kanser olgusu saptanmış olup, bunun 100,000'i erkek, 70,000'i kadındır. Aynı yıl 153,000 birey akciğer kanserinden ölmüştür (8).

Amerikan Kanser Derneği (ACS)'ne göre, erken tanı ve gelişen tedavi yöntemleri diğer kanserlerde yaşam süresini azaltırken, akciğer kanserinde aynı başarıya

ulaşılamamıştır. İçinde bulunduğumuz bu yıl tüm dünyada 2,000,000 yeni akciğer kanseri olgusu beklenmektedir.

Türkiye istatistikleri ile insidans ve mortalite konusunda gerçekçi bir rakam vermek olası değildir. 1970'li yıllarda nedeni bilinen ölümler arasında 4. sıradayken, günümüzde kalp-damar hastalıklarından sonra 2. sıraya yükselmiştir. Her 10 ölümden birinde neden kanserdir. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi (SBKSD)'nin 1997 yılında yayınlanan raporunda, 1994 yılında tüm kanserler içinde akciğer kanseri %17,6 oranıyla birinci sırada yer almaktadır. Akciğer kanseri, insanda görülen tüm kanserler arasında erkeklerde %26,3 oranı ile birinci, kadınlarda %4,5 ile sekizinci sıradadır.

2.1.2. Akciğer Kanserinin Etyolojisi

Akciğer kanseri temel tıp bilimcileri ve klinisyenlerin uzun zamandan beri nedenini bulmak için büyük uğraş verdikleri kanser türlerinden biridir. Sigara akciğer kanserlerinde en iyi bilinen etyolojik faktördür (5,6). Halen erkeklerin %32, kadınların %28'inin sigara tiryakisi olduğu ABD'de, pulmoner malign lezyonların %94'ünden sigara sorumlu tutulmaktadır.

Sigara dumanı partikül ve gaz fazından oluşmakta ve 4000'den fazla kanserojen madde içermektedir. Günde bir paketten fazla, 20 yıl veya daha uzun süre ile sigara içenlerde akciğer kanseri riski içmeyenlere oranla 20-25 kat daha fazla olmaktadır. Pasif sigara içimi de akciğer kanseri nedenleri arasında sayılmaktadır (%17). Skuamoz hücreli kanserlerin %90'ı, adenokanserlerin %40'ı, küçük hücreli kanserlerin ise çok önemli bir bölümü sigara kullanımı ile ilgilidir. Sigaralardaki katran ve nikotin oranlarının düşürülmesine karşın kanser riski çok az düşmektedir. Sigara dışında çok sayıda karsinojenik maddenin akciğer kanserine neden olduğu bilinmektedir. Fiziksel ajanlardan iyonize radyasyon ve mineral lifler de (asbest, zeolit) akciğer kanserine neden olmaktadır. Radyum-226'nın bir parçalanma ürünü olan radon renksiz ve kokusuz bir gaz olup, toprak ve kayalarda doğal olarak bulunmaktadır. Uranyum madenlerinde çalışan ve radon gazına maruz kalan sigara içmeyen işçilerde akciğer kanserine bağlı mortalitenin 12 kat, sigara içenlerde ise içmeyenlere göre 10 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Mesleksi asbest teması ile akciğer kanseri arasındaki ilişki kesin olarak gösterilmiştir. Sigara içen asbest işçilerinde bu risk 100 kat artmaktadır. Diyetel faktörler de akciğer kanseri gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. A vitamininden eksik diyetle beslenenlerde

kanser insidansı artmaktadır. C vitamini , selenyum, E vitamininin antioksidan özellikleri nedeniyle anti-karsinojen olduğuna dair çok kuvvetli deliller mevcuttur. Geçirilmiş tüberküloz, kronik akciğer hastalığı, akciğer infarktı gibi akciğer hastalıkları da akciğer kanserine zemin hazırlamaktadır. Yaş önemli bir faktördür. Yapılan çalışmalar akciğer kanseri hastalarının %95 'inin 50-70 yaş grubunda olduğunu göstermektedir. Sitokrom P-450 sisteminde yer alan aril hidrokarbon hidroksilaz (AHH) enziminin yüksek aktivite gösterdiği kişilerde, akciğer kanseri riski 8 kat artmaktadır (9).

2.1.3. Akciğer Kanserinin Patolojisi

Özellikle onkogenler ve tümör gelişimindeki diğer genetik mekanizmalar başta olmak üzere, akciğer karsinomunun biyolojisi son zamanlarda ilgi odağı haline gelmiştir. Onkogenlerin çoğalması ve mutasyonu, kontrolden çıkan hücre bölünmesi üzerine etki edebilir. Ancak, akciğer kanserlerinde onkogenlerin çoğalması kanserin tipi ile ilgilidir; örneğin adenokarsinomlarda bu fenomenle daha sık karşılaşılır. Onkogenlerin akciğer kanserinin gelişiminde ve ilerlemesindeki rolleri bilinmemesine karşın, bulunmaları yaşam şansının azalması ile ilişkili görülmektedir.

Akciğer kanserleri, trakeo-bronşiyal epitelden köken alan neoplazmalardır. Akciğer kanserlerinin değişik sınıflamaları yapılmıştır. Bu sınıflamalardan bugün kullanılan, 1962 yılında Kreyberg'in yaptığı ve 1965 yılında WHO tarafından değiştirilen sınıflamadır. Ancak terminal safhada gelen akciğer kanserlerinin incelenmesi hastalığın başlangıcında görülen tipi ile son dönemdeki tipi arasında fark olduğunu ortaya koymuştur. Aynı olguda çok diferansiye yapılar yanında daha az diferansiye yapıların bulunduğu da görülebilmektedir. Akciğer kanserlerinin ancak %34 kadarı tek tip histopatoloji göstermektedir.

WHO Sınıflamasına Göre Akciğer Kanserleri

1. Yassı epitel (epidermoid) karsinoma
 - a) İyi diferansiye
 - b) Orta derecede diferansiye
 - c) Az diferansiye
2. Adenokarsinoma
 - a) Klasik mukus salgılayan ve salgılamayan
 - b) Bronşioalveoler

3. Adenoskuamöz karsinoma

4. Küçük hücreli kanser

a) Yulaf hücreli kanser

b) İntermediat

5. Az diferansiye büyük hücreli kanser

6. Dev hücreli kanser

2.1.4. Klinik Belirtiler

Tümörün göğüsteki yeri, metastatik yayılma veya akciğer dışında paraneoplastik belirtilerle ilişkilidir. Çoğu hastada kilo kaybı vardır ve semptomlar; nitelik değiştirmiş öksürük (%75), nadiren yaşamı tehdit eden hemoptizi (%50), dispne (%60), göğüs ağrısı (%40) ve bronko-alveolar karsinomda balgam çıkarılmasıdır. Genellikle küçük hücreli tümörlerin neden olduğu superior vena kava basısı ve obstruksiyonu, yüzde ve üst ekstremitelerde ödem, dispne, stridor, kafa içi basınç artışı ile ilgili semptomlara neden olur. Tümörün plevra veya perikard boşluğuna doğru yayılması efüzyonla sonuçlanır. Bronkojenik karsinomda tanı ancak diğer organlara metastaz yapmasından sonra konabilir. Beyin, karaciğer, kemik ve lenf düğümleri sık metastaz yerleridir ve sigara içenlerde buralarda belirlenen tümörlerin değerlendirilmesinde mutlaka primer orjin olarak akciğer neoplazmı için araştırma yapılmalıdır.

2.1.5. Tanı

Radyolojik tetkikler hastalığın tanısında ve evrenmesinde kullanılır. Kesin tanı histopatolojik olarak konur. Bronkoskopik, transtorasik veya cerrahi yöntemlerle alınan biyopsilerin patolojik incelenmesi tanıyı kesinleştirir. Hastalığın evresine ve türüne göre cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gündeme gelir. Hastalığın performans durumu ve yaygınlığı prognozu etkiler. Evre arttıkça ve kanser yaygınlaştıkça hastaların yaşam süresi kısalmaktadır.

2.2. PNÖMONİ

Pnömoni, akciğerlerin klinik ve radyolojik konsolidasyon bulgularıyla karakterli inflamasyondur. Anatomik lokalizasyona göre pnömoniler 3 gruba ayrılır. Bir veya daha çok lob etkilenirse lobar pnömoni denir. Streptococcus pneumoniae pnömonisi buna örnek olarak verilebilir. Akciğerin iletilici hava yolları ve çevre parankiminin inflamasyonu lobuler pnömoni olarak bilinir ve buna staphylococcus aureus pnömonisi

iyi bir örnektir. Diğer bir grup intersitisyel mesafeyi etkileyen pnömoniler olup, viral pnömoniler bu grupta incelenir. Etyolojik kökene göre pnömoniler bakteriyel, viral, fungal ve paraziter pnömoniler olarak sınıflandırılabilir. Klinik semptomları üşüme, titreme, ateş, öksürük, balgam, radyolojik konsolidasyon gölgeleri şeklinde ise tipik pnömoniden; bu semptomların çoğunun olmayıp sadece kuru öksürük, değişik radyolojik görünüm izleniyorsa atipik pnömonilerden şüphelenilir. Son yıllarda popüler olan ve pnömonileri değerlendirmede ve tedaviye yön vermede daha pratik sonuçları olan sınıflandırma;

- A. Toplum kökenli pnömoniler,
- B. Hastane kökenli pnömoniler,
- C. İmmünesupresse hastalardaki pnömoniler.

2.2.1. Toplum Kökenli Pnömoniler (TKP):

Bilinen bir immün yetmezliği olmayan kişilerin toplumdan kazandıkları pnömonilerdir. Birçok bakteriyel ajan akut başlangıçlı, yüksek ateşli, pürülan balgamlı, radyografik olarak lobar veya segmenter konsolidasyonla karakterize tipik bir pnömoni tablosu oluşturur. Toplum kökenli pnömonilerde sık rastlanılan patojenler; streptococcus pneumoniae, haemophilus influenzae, gram (-) aerob basiller, staphylococcus aureus, mycoplasma pneumonia, chlamydia pneumonia, legionella pneumophiliae gibi atipik pnömoni etkenleri ve anaerob bakterilerdir. Toplum kökenli pnömonili hastalar tanı konulduğu zaman bazı kriterlere göre dört gruba ayrılmıştır:

1. 60 yaşından küçük, eşlik eden başka bir hastalığı olmayan TKP'li poliklinik hastaları. Bu grupta en çok saptanan mikroorganizmalar S. pneumoniae, M. pneumoniae, solunumsal virüsler, C. pneumoniae ve H. influenzae'dir.
2. Eşlik eden başka bir hastalığı olan ve/veya 60 yaş ve üzeri TKP'li poliklinik hastaları. Bu gruptaki hastalarda S. pneumoniae, solunumsal virüsler, H. influenzae, aerobik gram (-) basiller ve S. aureustur.
3. Yoğun bakım gerektirmeyen ancak hospitalize edilen TKP'li hastalar. Bu grupta, C. pneumoniae, H. influenzae, aerobik gram (-) basiller, Legionella türleri S. aureus, C. pneumoniae, solunumsal virüsler en sık görülür.

4. Yoğun bakım gerektiren ciddi TKP'li hastalar. Bu grupta *S. pneumoniae*, *Legionella* türleri, aerobik gram (-) basiller, *M. P.neumoniae* ve solunumsal virüsler en sık görülen patojenlerdir (10).

En iyi merkezlerde dahi toplum kökenli pnömoni olgularının ancak %70'inde etken patojen saptanabilmektedir. Pnömonokok pnömonisine bağlı ölüm riski erken çocukluk döneminden sonra düşük düzeyde devam eder. Daha büyük çocuklar ve genç erişkinler HIV enfeksiyonu ve orak-hücreli anemi gibi immüniteyi engelleyen hastalıklara sahip olduklarında daha yüksek risk altında olurlar (11). Daha geç erişkinlik döneminde, pnömonokok pnömonisi riski yeniden artar ve yaşlılarda yüksek risk vardır (12).

Menenjit, pnömonokok hastalığının en ciddi manifestasyonudur. Gelişmekte olan ülkelerde, pnömonokok yaşamın ilk 3 ayında en önemli menenjit nedenidir (13). Daha büyük bebeklerde ve genç çocuklarda, pnömonokok menenjiti, *Haemophilus influenzae* tip b'ye bağlı menenjitten daha az sıklıkla görülür. Ancak, Hib konjuge aşılarının uygulandığı yerlerde, Hib menenjiti büyük oranda ortadan kalkmıştır. Böylece pnömonokok, tüm yaş gruplarında en önemli menenjit nedeni olarak kalmıştır (14). Risk faktörlerini ortadan kaldırarak pnömonokok hastalığının önlenmesi, kontrolün esas yolu olmalıdır, ama bu uzun vadeli bir uygulamadır. Kısa vadede pnömonokok hastalığının kontrolü için, pnömonokok aşılması en iyi seçenektir. Pnömonokok polisakkarid aşıları erişkinlerde etkilidir, ama çocuklardaki etkinliği tartışmalıdır. Polisakkarid protein konjuge pnömonokok aşıları ve basit protein aşıları geliştirilmektedir (15).

2.2.1.1. Klinik Özellikler

Solunum yolu semptomları, özellikle öksürük, pnömonide sık bulgudur, hastaların %80'inde öksürük şikayeti vardır. Ateş, iştahsızlık, titreme diğer sık bulgulardır. Akut pnömoni ise kuru öksürük veya mukoid balgamla görülen, genellikle genç yaşlarda ortaya çıkan tablodur. Pnömonili hastalarda %10-%30 oranında nonspesifik semptomlar olabilir. Bunlar baş ağrısı, bulantı, kusma, boğaz ağrısı, myalji, artralji, karın ağrısı ve diareidir. Pnömonili hastaların %40'ında plöritik göğüs ağrısı olur. Yaşlılarda (>65) mental konfüzyon ön planda olabilir. Yaşlılarda solunum sayısı artışı da (>20/dk) bulunabilir

2.2.1.2. Tanı Yöntemleri

Pnömonilerde radyolojik görünüm etkenin özelliği ve konakçının immümitesine göre değişmektedir. Göğüs filminde görülen opasite infeksiyon, kan, ödem , malignite veya pulmoner vaskülit ve ilaç reaksiyonlarının pulmoner bulgusu olabilir. Sadece göğüs radyolojisi bulgularıyla etyolojik tanıya varmak mümkün değildir. Balgamın gram boyası ile boyandıktan sonra mikroskopik incelenmesi pnömonilerin tanı ve tedavisinde en önemli basamaktır (16). Balgam kültürü balgam boğaz florası ile kontamine olduğu için çok değerli değildir.

Bakterilerin neden olduğu pnömonilerde kan kültürlerinde etkeni üretme olasılığı %20-30 arasında değişmektedir. Ayrıca bazı serolojik testler kullanılmaktadır. Serolojik testlerden en yaygın olanı Mycoplasma pneumoniae tanısında kullanılan soğuk agglütinindir. Ucuz ve kolay uygulanan bir testtir.

2.2.2. Hastane Kökenli Pnömoniler (HKP):

Hastane kökenli pnömoniler, hastane infeksiyonları arasında üçüncü sırada yer alan, yoğun bakım ünitelerinde sık izlenen, mortalite ve morbiditesi yüksek olan infeksiyonlardır. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, hastane kökenli pnömoniler; abdominal ve toraks cerrahisinden iyileşmekte olan veya medikal problemleri olan, hastanede yatan hastalarda primer olarak oluşmaktadır. Pnömoni oluşturan mikroorganizma alt solunum yollarına aspirasyon, inhalasyon, kan yolu ve komşu organlardan yayılım yolları ile gelir. HKP genellikle orafaringeal sekresyonun aspirasyonu ile gelişir. Hastaneye yatıştan sonraki 48 saat içinde Gr (-) bakteriler ve S. Aureus orafaringte kolonize olur. Çoğu tıbbi personel ellerinde Gr (-) bakteri taşırlar. Hastanede yatan hastalara uygulanan işlemlerin birçoğu aspirasyonu kolaylaştırır. Gr (-) ve S.aureus kolonizasyonu olan orafaringeal sekresyonunun aspirasyonu ise pnömoni gelişimine zemin hazırlamaktadır. Mekanik ventilasyon sırasında hastane ortamında bulunan patojen mikroorganizmaların solunum yolu ve alveollere ulaşması kolaylaşmaktadır (17).

2.2.2.1. Tanı Yöntemleri

Genel olarak toplum kökenli pnömonilerin tanısında yardımcı olan semptom, bulgu ve laboratuvar değişiklikleri hastane kökenli pnömonilerin tanısında fazla yardımcı değildir. Hastanın altta yatan başka bir hastalığının olması tanıyı zorlaştırır. Sedasyon

hali ve mental durumun değişmiş olması semptomları etkiler. Ateş, göğüs ağrısı, solunum sıkıntısı hastanın primer hastalığına yorumlanabileceğinden tanı zorlaşır. Zayıf ve güçsüz hastalar balgam veremezler, etkenin izolasyonu oldukça zorlaşır. Özellikle yaşlı hastalarda tanı problemi daha fazladır. Tanıda en önemli araç direkt posteroanterior (P-A) akciğer grafisidir. Balgam veren hastalarda balgamın gram boyanması önemlidir. Rutin balgam, kan, plevra sıvı kültürlerine ilave olarak, diğer yöntemlerle de kültür alınması denenmelidir. Transtrakeal aspirasyon, transtorasik iğne biyopsisi, fiberoptik bronkoskopi korunmuş fırça yöntemi kullanarak alınan materyallerin direkt mikrobiyolojik incelenmesi ile önemli bulgular elde edilebilir. Bronkoalveolar lavaj (BAL) daha geniş alveolar alanı örnekleyebilmekte ve korunmuş fırçalamaya göre daha üstündür. Pnömonili olguların BAL sıvısında nötrofil sayısı artmıştır, nötrofil sayısının az olması pnömoni tanısından uzaklaştırmaz. Makrofajların ve nötrofillerin %2'si veya daha fazlasının içinde patojen saptanması pnömoni tanısı için daha spesifiktir.

2.2.3. İmmün Yetmezlikli Şahıslarda Pnömoniler

İmmün yetmezlikli hastalarda solunum sistemi enfeksiyonları önemli mortalite ve morbidite sebepleridir (18). Son yıllarda özellikle kanser kemoterapisi sonucu immün supresyon gelişen hastalarda, solunum sistemi enfeksiyonları içerisinde Pneumocystis carinii pnömonisi (PCP) artan oranlarda göze çarpmaktadır (19,20). P.carinii fırsatçı bir patojen olup özellikle Human Immundeficiency Virus (HIV) enfeksiyonlu kişilerde (19,21,22) ayrıca solid ve hematolojik malignitelerde (20) organ transplantasyonu yapılanlarda ve konnektif doku hastalıklarında görülebilir (23). Bu hastalıklarda tanının çabuk konulması hayati önem taşımaktadır. İmmünsupresyon terimi, herhangi bir nedene bağlı olarak, konjenital veya akkiz, geçici ve kronik bir şekilde organizmanın yabancı bir antijene karşı yanıtındaki yetersizliği tanımlar (19). Böyle hastalar P. Carinii, Cytomegalovirus, funguslar, atipik mikrobakteriler gibi fırsatçı enfeksiyonlar yönünden yüksek risk altındadır. Özellikle bozulmuş hücrel immünite ve yüksek doz steroid tedavisi P. Carinii enfeksiyonları için önemli predispozan faktörlerdir (24). HIV enfeksiyonunda, solid ya da hematolojik malignitelerde, organ transplantasyonları, konnektif doku hastalıklarında ve bunlara uygulanan immunosupresyon tedavilerde P.carinii pnömonisi (PCP) gelişme riski artmaktadır (23). Hemotolojik malignitelerde özellikle kemoterapi sonrası PCP'nin sık görüldüğü bildirilmektedir. PCP ayrıca yüksek

olmayan dozlarda bile olsa sistemik steroid tedavisi uygulanan hastalarda görülebilmektedir (25).

2.2.3.1. Klinik Özellikler

P. Carinii pnömonisinde başlıca görülen semptomlar ateş, nefes darlığı ve kuru öksürüktür. Bununla birlikte solunum sistemi ile ilgili yakınmalar gizli kalabilir (19). Bu nedenle tanı konuluncaya kadar 1-2 hafta geçebilir. Eğer dikkatli anamnez alınmaz ve hasta özellikle P.carinii açısından değerlendirilmez ise tanı kolayca atlanabilir (24).

2.2.3.2. Tanı Yöntemleri

Fiberoptik bronkoskopi; pnömoni tanısında kullanılan en önemli yöntemlerden birisidir. Zira bununla doku biopsisi, bronş lavajı, bronko-alveolar lavaj alınması mümkün hale gelmektedir (26). Tanı için diğer bir yöntem direkt floresan antikor (DFA) yöntemi ile pneumocystis antijeninin saptanmasıdır. Bu işlemde monoklonal antikorların P.carinii kist duvar ve matriks antijeni ile reaksiyona girerek elma yeşili röfle veren tipik P.carinii kistlerinin görülmesinden yararlanır (27). Tanıyı koymada diğer bir yöntem ise kist antijenine karşı oluşan hümorale antikorların ölçümüne dayanır. Bu antikorlar pozitif ise tanıya yardımcıdır. Ancak negatif olması tanıyı ekarte etmez. Bu yöntem araştırılma aşamasındadır (28).

Pnömoni hastalığı, gelişmekte olan ülkelerde, erişkinlerin sağlığı üzerinde ağır bir yük oluşturmaktadır. Halen mevcut pnömokok polisakkarid aşısının ve gelecekteki pnömokok konjuge aşısının (29) veya protein (29,30) aşılarının yaygın kullanımı ile bu yükün büyük kısmının azaltılabileceğine inanmak için sağlam nedenler vardır. Ancak aşuların daha uygun fiyatta olması gerekliliğine ek olarak, üretim, nakil, ve stokla ilgili sorunlar çözülmelidir (31).

2.3. NİTRİK OKSİT

15-20 yıl öncesine kadar nitrik oksitin (NO) sadece araçların egzoz gazı ve sigarada bulunan atmosferik bir gaz ve ayrıca çevre kirletici bir ajan olduğu düşünülmekteydi. Ancak 1987 yılında, damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentaz keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF'nin NO olduğu tespit edilmiştir (32,33). İnsan ve hayvanların da NO üretebildiklerinin ortaya konması ile fizyolojik ve patolojik

olaylardaki rolü anlaşılmış ve 1992'de yılın molekülü seçilmiştir (32,34). Yakın zamanlarda NO'in eşsiz bir biyolojik mediatör olarak tanımlandığı görülmekte ve klinik hastalıkların potansiyel bir markırı olarak; hipertansiyon, astım, septik şoka kadar değişen bir dizi hastalıkların patogenezinde rol oynadığına inanılmaktadır.

2.3.1. Nitrik oksitin kimyası

NO küçük , renksiz, yüksüz, su ve yağdaki çözünürlüğü CO ve O₂ 'e benzeyen bir moleküldür. Nitrojenden daha büyük fakat nitroz oksit veya oksijenden daha az yoğunluğa ve molekül ağırlığına sahiptir. Nitrik oksit, üzerinde yük taşımaması nedeniyle hücreden hücreye hiçbir bariyerle karşılaşmadan kolaylıkla geçebilmektedir. Aynı zamanda NO, taşıdığı ortaklanmamış elektron nedeniyle bir serbest radikaldir ve yüksek derecede reaktiftir, fizyolojik yarı ömrü saniyeler olarak ölçülmüştür. NO; diğer pekçok radikale oranla daha dengeli olmasına rağmen, oksijen, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek sonuçta sırasıyla NO₂, peroksinitrit (ONOO⁻) ve nitrat/nitrit (NO₃/NO₂) oluşturma eğilimine sahiptir (35). Nitrik oksit gaz halinde bulunma ve suda az oranda çözünme eğilimi göstermektedir. Bundan dolayı da NO fizyolojik bir tampon içerisine verildiğinde, %80 'den fazlası hemen sıvının üst yüzeyinde görünür hale gelmektedir (36). Gaz fazındaki NO ve O₂'den nitrit (NO₂) oluşumu, hem NO hem de oksijen konsantrasyonlarına bağlıdır. Yüksek konsantrasyondaki NO oksijensiz ortamda oldukça stabil olup suda erime özelliği gösterir iken düşük konsantrasyondaki NO oksijen varlığında dahi stabildir. Hücre içine giren nitrik oksit enzimlerdeki Fe ve Cu gibi taşıyıcı metal iyonlarına bağlanabilir. NO, kanda hemoglobininle reaksiyona girerek hızlı bir şekilde inaktive edilmektedir (37). E vitamininin en önemli çeşidi olan α-Tokoferol de nitriti nitrik oksite indirgeyebilmektedir (38). Bunlara ilave olarak, askorbat varlığında, nitroz asitten nitrik oksit oluşmaktadır.

2.3.2. Nitrik Oksitin Biyosentezi

Nitrik oksit, moleküler oksijenin var olduğu şartlarda, L-arginin'in NOS (nitrik oksit sentetazlar) olarak bilinen enzimler tarafından L-sitrülline dönüştürülmesi esnasında meydana gelmektedir. Nitrik oksit (NO) sentetaz familyasının katalizlediği stereospesifik ürün olarak ortaya çıkar (39).

NADPH; nitrik oksit sentetaz enzimi (NOS) izoformlarını ayırt etmek amacıyla klonlama yöntemi uygulandığında, bu izoformlar birbiri ardı sıra sıralanmaktadır (40).

Tip 1 NOS (nöronal- nNOS) ve Tip 3 NOS (endotelial- eNOS) genel olarak belirli hücrelerden konstitütif tarzda salgılanmaktadır. Bu nitrik oksit sentetaz izoformları hücre içi Ca konsantrasyonunda artışa yol açan fizyolojik uyarılara ve agonistlere bir cevap olarak daha az miktarlarda NO oluşumuna yol açarlar. Bunlar kalsiyum ve kalmodulinle inaktive edilirler ve agonistler, intraselüler kalsiyum konsantrasyonunda hızlı bir artışla cNOS'u aktive eder ve saniyeler veya dakikalar içerisinde NO oluşumu ile sonuçlanır. Bundan dolayı bu enzimler Ca' a bağımlı nitrik oksit sentetazlar olarak adlandırılır. Üçüncü izoform olan, Tip 2 NOS (inducible- iNOS) genel olarak istirahat halindeki hücrelerde bulunmamaktadır. Fakat birçok sitokin veya lipopolisakkarit gibi bakteriyel ürünler tarafından uyarılma sonrasında, hücrelerden Tip2 NOS salgılanmaktadır (41). Bu, enzim salgılanmasının hemen sonrasında başlayan ve uzun zaman süresi boyunca kalsiyuma bağımlı bir tarzda devam eden, büyük miktarlarda NO üretimine yol açmaktadır. iNOS, makrofajlardaki değişik sitokinlerce ve birçok çekirdekli memeli hücrelerce (bunlar düz kas hücreleri ve vasküler endotelial hücreler olabilir) indüklenebilmektedir (42,43). Bu izoformların genleri kromozom 7 (eNOS), 12 (nNOS) ve 17 (iNOS)'e lokalizedir (44). Nöronal tip NOS sitozoliktir (40) ve cNOS nötrofiller, mast hücreleri, sinir dokusunda olduğu gibi iskelet kasında da bulunmaktadır (45). Sinir veya endotel hücrelerinde konstitütif nitrik oksit sentetazların kısa süreli aktivasyonundan önce salınan az miktarda NO'nin sırasıyla nörotransmisyon ve damar tonusunun düzenlenmesi gibi eylemlere iştirak ettiği düşünülmektedir (46).

Detaylı çalışmalarla, NOS'un redüktaz bölgesi L-arginin oksidasyonunun oluştuğu yerde, NADPH'dan "hem" bölgesine eşit miktarlarda indirgenmenin meydana geldiği hipotezi ortaya atılmıştır (47). NO'nin akıbeti hakim olan metabolik duruma bağlıdır. Fakat metabolitlerinin birçoğu toksiktir. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol oynamaktadır: kan akımının regülasyonu, nörotransmisyon, inflamasyon ve immün savunma mekanizması, koagülasyon ve muhtemelen hücre büyümesi (48). Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır (49). Diğer taraftan nitrik oksit sentezinin bir ürünü olan NO bağışıklık, sinir ve kardiyovasküler sistemlerin de bir mesajcısıdır (50,51).

Bir transmitter olarak NO sinir uyarılarının düzenli transmisyondan sorumludur. Bununla birlikte aşırı NO stimülasyonu sinir hücrelerinin tahribine yol açabilir. Kan basıncı sürekli olarak, NO konsantrasyonundaki fizyolojik yükselme ve alçalmalarla ayarlanmaktadır. Koroner kalp hastalığının tedavisinde nitratların kullanımı klasik bir uygulamadır; koroner hastasında hasara uğramış endotelium yeterince EDRF üretemez ve ortaya çıkan EDRF açığı koroner spazmlara yol açar. Eksojen olarak uygulanan nitratlar, damarların hastalıktan etkilenmiş segmentlerinde endojen NO yokluğunu giderebilir. Bu şekilde NO'nun düz kas hücreleri üzerindeki direkt etkisiyle koroner damarların kasılma/gevşeme dengesi eski normal durumuna dönmüş olur.

2.4. ADENOSİN DEAMİNAZ (ADA)

Adenosin deaminaz, pürin nükleotidlerinin katabolizmasında görev alan (52) ve adenosinin inozine, deoksiadenosinin de deoksiinozine deaminasyonunu katalizleyen bir enzimdir (53). Adenosin deaminaz enzimi özellikle lenfoid hücrelerin yüksek oranda bulunduğu dokularda (lenfoid nodlar, dalak, Payer's patches, timus) yaygın bir şekilde dağılmıştır. Adenosin deaminaz enziminin özellikle T lenfositlerin farklılaşması için gerekli olduğu düşünülmektedir (54). Ayrıca monositlerin ve makrofajların olgunlaşmasında rol oynadığı için ADA hücre aracı bağışıklığın bir komponenti olarak düşünülür (55). ADA'nın esas fizyolojik aktivitesi lenfotik çoğalma ve farklılaşma ile ilgilidir. Enzim aktivitesi lenfositlerin mutajenik (56) ve antijenik (57) cevabı esnasında belirgin bir şekilde artar ve buna karşılık lenfosit blastogenezi ADA inhibitörü ile inhibe edilir (58). Genellikle toplam ADA aktivitesi her bir izoenzimin (ADA1 ve ADA2) katkısı gözönünde bulundurulmaksızın ölçülür.

2.5. MALONDİALDEHİT

Hastalıklarla ilgili birçok çevre patojeninin moleküler biyolojik mekanizmaları olarak serbest radikaller ve lipid peroksidasyonunun rolüne dair birçok örnek vardır (59). Hücre hasarı ve ölümü gibi pekçok mekanizmayı yönlendiren serbest radikallerin en önemli sonuçlarından birisi lipid peroksidasyonudur (60). Lipid peroksidasyonu hücre membranının fosfolipidlerinde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyona girerek lipid hidroperoksitlerini oluşturduğu kompleks bir yoldur (61). Başlama, yayılma ve sonlanma olmak üzere başlıca 3 safhada gerçekleşir: Lipid peroksidasyon süreci, bir ansatüre yağ çiftinin cis konumundaki çift bağ arasındaki metilen grubundan bir hidrojen

atomunun çıkarılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Lipid peroksi radikalleri membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder. Lipid peroksidasyon ürünleri primer olarak, lipid peroksidasyonunu kan akımı yoluyla harekete geçiren diğer organ ve dokuların erişim yerlerinde oluşur ve sonuç olarak hücre ve doku hasarına neden olur. Lipid peroksidasyon ürünlerinden biri olan MDA; üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda meydana gelir (62). MDA 3 karbon/dialdehitten oluşur (63). MDA; tiobarbitüric asid reaktif maddesi (TBARS) olarak ölçülebilen lipid peroksidasyonunun bir belirleyicisidir. MDA renkli ürünler oluşturmak üzere asidik koşullarda tiobarbitüric asid (TBA) ile reaksiyona girer (64). TBA testi yağ asitlerinin, membranların ve besinsel ürünlerin peroksidasyonunun ölçülmesinde kullanılan en eski metodlardan biridir. TBA ile düşük pH'da ve yüksek ısıda (95°C) reaksiyona giren MDA pembe renkli bir pigment oluşturur. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da membranın deformasyonu, iyon transportunun bozulması, enzim aktivitesinin değişmesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran değişiklikleri ile sonuçlanır. Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinogenik olduğu hakkında fikir vermektedir (62,63,65,66). MDA üç veya daha fazla çift bağlı poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonundan dolayı, hayvansal kaynaklı yiyeceklerde yüksek görülür. Ayrıca MDA in vivo olarak hem enzimatik olmayan yolla lipid peroksidasyon ürünü olarak hem de enzimatik yolla prostaglandin metabolizmasında siklooksijenaz enzim reaksiyonunun bir ürünü olarak oluşur (52).

2.6. KSANTİN OKSİDAZ (XO)

Ksantin oksidaz, hipoksantin ve ksantine, ksantin de ürik asite dönüşümünü katalize eden ve molibden içeren önemli bir enzimdir (67). Enzim primer olarak ksantin dehidrogenaz (desulfo) formundadır. Homojenizasyon, sülfidril oksidasyonu gibi durumlarda ksantin oksidaza dönüştürülebildiği için numunelerin -20°C'de saklanması gerekmektedir (67). Çünkü ksantin oksidaz toksik süperoksit ve hidrojen peroksiti oksijene indirger (68).

Ksantin oksidaz, hem pürin hem de serbest radikal metabolizması ile ilişkilidir. Bir yandan ksantin ve hipoksantinin ürik aside dönüşümünü sağlarken diğer yandan yan ürün olarak toksik selüler yapılar olan süperoksit anyonların birikimine neden olur.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Çalışma grupları İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları Kliniği'ne başvuran hastalardan oluşturuldu. Göğüs Hastalıkları Kliniği'nce takip ve tedavisi yapılan 13 değişik tipte akciğer kanseri hastası ve 13 pnömoni hastasına endikasyon üzerine bronşial lavaj yapıldı ve yıkama sıvıları elde edildi. Pnömoni grubundaki hastaların yaşları 34-80, akciğer kanseri grubundaki hastaların yaşları ise 38-80 arasında değişmekteydi.

Kontrol grubu, bunların dışında endikasyon üzerine teşhis için bronşial lavaj yapıp, herhangi bir patoloji tesbit edilemeyen veya kanser ve pnömoni dışında hastalığı olan 13 kişiden oluşturuldu. Bunların 7 tanesi KOAH, 3 tanesi geçirilmiş inaktif tüberküloz, 3 tanesi kronik sinüzit tanısı konan hastalardı. Kontrol grubunu oluşturan hastaların yaşları 21-70 arasında değişmekteydi.

3.2. Kullanılan araç, gereç ve kimyasallar

Çalışmada Hermle Z 383 K Santrifüjü LKB Biochrom Ultrospec Plus UV/visible Spectrophotometer ve Florescence spectrophotometer (Hitachi 4010, Japan) cihazları kullanıldı.

Çalışmada kullanılan maddeler şunlardır: adenosine, fenol nitroprussid, hypochloride; fosfat, ksantin, TCA, Na₂EDTA; TBA, HCl, n-bütanol, NaHPO₄; sülfanilamide, N-Naphthylethylene diamine (NNDA), glycine, NaOH, NaNO₂, kadmiyum granülleri, 1,1,3,3 tetramethoxy propane.

3.3. Yapılan İşlemler

3.3.1. Kan numunelerinin hazırlanması

Lavaj yapılan hastalardan elde edilen sıvılardan en az 2-3 ml'si daha önceden temin edilen polipropilen tüplere konarak ağzı kapatıldı (Her hastaya aynı miktar sıvı verildi ve bekleme süreleri aynı idi). Hastalara lavaj yapıldığı gün heparinli tüplere 5ml kan alındı. Alınan kanlar bekletilmeden 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazması ayrıldı. Bronşial yıkama sıvıları 900xg'de 5 dakika santrifüjlendikten sonra derin dondurucuya konuldu. Çalışmada plazma ve lavaj sıvısı kullanıldı. Numuneler analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-20°C) saklandı.

3.3.2. Bronşial yıkama işlemi

Hastalara en az 6 saatlik bir açlık sonrası bronkoskopi işlemi uygulandı. Bronkoskopi işlemi Olympus T-31 marka fiberoptik flexible bronkoskop ile yapıldı. İşlemden 30-60 dakika öncesinden 10 mg diazepam intramüsküler uygulanarak premedikasyon sağlandı. İşleme başlamadan, üst solunum yolları ve trakede topikal anestezi sağlamak amacıyla hastaya 10 cc citanest, ultrasonik nebulizör cihazı ile verildi. Bronş lavajı şüpheli lob veya segment bronşundan alındı. Lavaj 20cc izotonik sodyum klorür (NaCl) solüsyonu verilip, aspire edilmek suretiyle gerçekleştirildi.

3.3.3. Nitrik oksit miktarının tayini:

Numunelerdeki nitrit miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlendi (69). Plazma ve lavajdaki total nitrit (nitrit + nitrat) ise kadmiyum redüksiyon metodunun modifikasyonu ile değerlendirildi. Deproteinize edildikten sonra pH 9,7' ye ayarlı glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri ile (4ml reaksiyon karışımı için 2,5-3 g Cd granülleri kullanıldı). 90 dakikalık inkübasyon sonunda nitrat redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit sülfanilamid ve buna bağlı N-naphthylethylene diamine (NDA) diazotizasyonu ile belirlendi. Pembe bir renk oluşumu gözlemlendi. 545 nm dalga boyunda maksimum absorban veren bu kromoforun renk şiddeti bir spektrofotometreden okundu. Son nitrit konsantrasyonu ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat konsantrasyonu belirlendi.

Kullanılan reaktifler:

Çalışma reaktifi:

1. Kadmiyum granülleri 2,5-3g ağırlığında tartıldı .
2. Glisin- NaOH: 15,0g glisin distile suda çözüldü. 2mol/L NaOH ile pH'sı 9,7'e ayarlandı ve 1,0 L'e tamamlandı . (0-8 °C'de 1 ay saklanabilir.)
3. Sülfanilamide: 5,0g sülfanilamide alınıp, 500ml'lik ılık 2mol/L NaOH çözeltisinde çözüldü. (Oda sıcaklığında bir yıl saklanabilir.)
4. N-Naphthylethylene diamine: 50mg N-Naphthylethylene diamine 250ml distile suda çözüldü. (0-8 °C'de 2 ay saklanabilir.)

Deneyin yapılışı: 0,5ml numuneye (plazma ve lavaj) 2,0ml 75mmol/L ZnSO₄ ve 2,5ml 55mmol/L NaOH eklenerek 3500xg'de 10 dakika santrifüj edildi (Final pH 7-7,5 arasında olmalıdır). Analizde üstte kalan berrak kısım kullanıldı. Daha önceden 2,5-3g

ağırlığında tartılan kadmiyumlar 3 kez distile su ile yıkandı, daha sonra 1-2 dakika 5mmol/L CuSO₄ çözeltisinde bekletildi, suyu süzöldü. 3 kez glisin -NaOH tamponu ile yıkanarak suyu süzöldü. Bu aşamadan sonra granöller 10 dakika içinde kullanıldı. Kullanımdan sonra granöller distile su ile yıkandı ve tekrar kullanılacağı zamana kadar 0,1mmol/L H₂SO₄ içerisinde bekletildi.

Nitrit standart grafiğinin hazırlanması için NaNO₂ kullanıldı. 10⁻⁹-10⁻³ mol/L konsantrasyonlarında bir seri NaNO₂ hazırlandı ve konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi. Bu grafikten, hesaplamalar için bir çarpım faktörü geliştirildi.

Nitrik oksit miktarının hesaplanması:

Okunan değer x faktör= A µmol/L

A µmol/L x dilüsyon faktörü = µmol/L nitrit

3.3.4. Malondialdehit (MDA) Miktarının Tayini

Deneyin prensibi: Thiobarbitürük asit ile 95 °C'de reaksiyona giren malondialdehit (MDA), pembe renkli bir pigment oluşturur. 1 saatlik inkübasyon sonunda buz banyosuna sokularak reaksiyon durdurulur. Butanol ilavesinden sonra 5 dakika vortexleme işlemi yapılır ve oluşan pembe renkli pigment bir spektrofloreometrede tespit edilir. Bu rengin şiddeti ortamdaki MDA ile orantılıdır (70).

Kullanılan reaktifler:

1. 29 mmol/L thiobarbitürük asit (TBA) solüsyonu: 1,035 g NaH₂PO₄.H₂O alınıp, deiyonize su ile 80 ml'ye tamamlandı. 0,418 g TBA alınıp, hazırlanan NaH₂PO₄ solüsyon içinde çözüldü. (Final pH 2,8 olmalıdır.)
2. 6 M HCl
3. n-Butanol

Deneyin yapılışı: Numuneler deiyonize su ve TBA çözeltisi ile 5 dakika sürekli vortexlendi ve kör çalışmaları 25°C, numuneler 96°C olmak üzere 1 saat inkübasyonda bırakıldı. İnkübasyon sonunda tüpler buz banyosuna sokularak reaksiyon durduruldu. Daha sonra 25µl HCl ve 3,5ml n-Butanol ilave edildi ve 5 dakika boyunca çalkalandı. 1500xg'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Üstteki bütanol fazı alınarak spektrofloreometre ile okundu (Excitation: 525 nm, emission: 547nm). Spektrofloreometrede okuma yapılırken önce numune körü , ardından numunenin kendisi okundu.

Deneyin standart grafiği, 2 adet MDA molekülünün birleşmesinden oluşan 1,1,3,3-tetramethoxypropane ile hazırlandı. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar numuneler ile aynı şartlarda çalışıldı ve spectrofluoremetrede okunmalarından elde edilen birimler (arbitrary unit) ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten bir çarpım faktörü geliştirilerek numunelere uygulandı.

3.3.5. Adenozin deaminaz (ADA) Aktivitesinin Tayini:

Numunelerde bulunduğu farzedilen adenozin deaminaz deney ortamındaki tamponda bulunan adenozin ile reaksiyona girerek, inozin oluştururken amonyak açığa çıkarır. Oluşan amonyak fenol-nitroprussid ve alkali hipoklorit ile reaksiyona girerek 628nm'de maximum absorbans veren mavi-yeşil renkli bir pigment oluşturur. Rengin şiddeti ile ADA aktivitesi arasında doğru orantı vardır (71).

Kullanılan reaktifler:

1. Fosfat tamponu (50 mM, pH 6,5): 4,73 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ distile suda çözüldü ve 1000 ml'e tamamlandı.

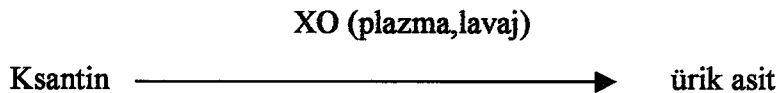
2. Tamponlanmış adenozin çözeltisi: 15ml fosfat tamponuna 140 mg adenosin konarak sıcak su banyosunda karıştırıldı, su altında soğutuldu. Ph'sı 6,5 'a ayarlanarak fosfat tamponu ile 25 ml'ye tamamlandı . Amonyum sülfat:1,982 g anhidroz amonyum sülfat amonyaksız distile suda çözümlenerek 1000 ml'e tamamlandı.

3. Fenol-nitroprussid: 10 g fenol ve 150 g sodyum nitroprussid 500 ml distile suda çözümlenerek 1000 ml'e tamamlandı.

4. Alkalın-hipoklorit: 125 ml 1N NaOH ve 16,4 ml hypochlorid karıştırılıp,1000 ml'e tamamlandı.

3.3.6. Ksantin Oksidaz Enzim Aktivitesinin Tayini

Deneyin prensibi: Bu metotta ksantin oksidaz aktivitesi; numunelerin (lavaj ve plazma) ksantin içeren bir tampon ile 30 dakikalık bir inkübasyon süresi sonunda ksantinden ürik asit oluşturması esasına dayanır. 30 dakika içinde oluşan ürik asit miktarı, %100'lük TCA solüsyonunun eklenmesi ve reaksiyonun durdurulması ile sabitlenir. 293 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülür. Böylece 30 dakika içerisinde üretilen ürik asit miktarı belirlenir ve IU cinsinden ifade edilir (72).



Kullanılan reaktifler:

Çalışma reaktifi:

1. Tampon (50 mM, pH 7,5): 0,5mM Na₂EDTA
2. Ksantin (4mM)
3. TCA(%100, w/v).

Deneyin yapılışı: 0,5mM Na₂EDTA ve ksantin, numunelerle 37°C'de 30 dakikalık inkübasyona bırakılır. TCA (%100) ilave edilir ve 3500xg'de 10 dakika santrifüj yapılır. Bu işlem sonucunda dipte tortu oluşur. Üstteki berrak sıvıdan alınarak önce kör sonra numune olmak üzere 293 nm dalga boyunda okunur. XO aktivitesinin hesabında standart olarak ürik asit kullanıldı. Sonuçlar U/L olarak ifade edildi.

3.3.7. İSTATİSTİKSEL TESTLER

İstatistiksel değerlendirme Windows 95-98'e uyumlu SPSS 7.5 programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplara non-parametrik testlerden One-Sample Kolmogorov-Smirnov testi uygulanarak grupların dağılımları incelendi. Plazma NO seviyesinin dışında yapılan diğer çalışmaların dağılımı normal bulundu. Normal dağılımlı grupların karşılaştırılmasında One Way Anova testi ve POST HOC testlerden LSD kullanıldı. Dağılımı normal olmayan gruba non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi uygulanarak gruplar karşılaştırıldı. P<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama ± ortalamanın standart sapması olarak verildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Akciğer kanseri grubunun lavaj ve plazmalarında malondialdehit ve nitrik oksit düzeyleri ile adenzin deaminaz ve ksantin oksidaz aktiviteleri:

Akciğer kanseri hasta grubunun lavaj ve plazmalarında yapılan analizler sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 1'de toplu halde gösterilmiştir.

Yapılan değerlendirme sonucunda bu gruba dahil olan hastaların lavajlarında MDA miktarlarının 0.42 $\mu\text{mol/L}$ ile 7.79 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD ; 2.80 \pm 0.55), ADA aktivitesinin 2.60 U/L ile 35.93 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 11.28 \pm 2.44), XO aktivitesinin 0.92 U/L ile 44.5 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 12.12 \pm 3.80), NO miktarının 108.4 $\mu\text{mol/L}$ ile 571.5 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD ; 286.8 \pm 40.42) tespit edilmiştir.

Aynı gruba ait hastaların plazmalarında MDA miktarlarının 0.8 $\mu\text{mol/L}$ ile 2.94 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 2.04 \pm 0.17), ADA aktivitelerinin 1.51 U/L ile 59.18 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 26.14 \pm 4.37), XO aktivitelerinin 0.27 U/L ile 29.76 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 6.50 \pm 2.87), NO miktarının 18.98 $\mu\text{mol/L}$ ile 377.9 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 104.68 \pm 34.43) tespit edilmiştir.

Tablo 1: Akciğer kanseri olan hastaların lavaj ve plazmalarında malondialdehit ve nitrik oksit düzeyleri ile adenzin deaminaz ve ksantin oksidaz aktiviteleri.

no	İsim	Cins	yaş	LAVAJ				PLAZMA			
				MDA ($\mu\text{mol/L}$)	ADA (U/L)	XO (U/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	ADA (U/L)	XO (U/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
1	İ.T	E	80	3.24	9.06	0.92	571.5	2.49	13.44	29.0	42.48
2	H.Ö	E	60	3.20	7.44	2.14	244.0	1.65	16.86	1.38	34.35
3	G.B	E	69	2.90	7.79	0.92	427.5	0.82	17.47	5.99	377.9
4	A.Y	E	38	0.67	2.60	4.38	357.9	2.45	16.62	1.84	56.04
5	M.K	E	67	1.51	10.8	22.08	457.4	2.34	21.04	2.30	298.3
6	İ.İ	E	56	7.79	3.13	9.02	108.4	2.94	31.16	2.07	39.77
7	B.A	E	33	2.63	4.76	0.92	424.8	1.79	27.55	2.07	60.56
8	H.K	E	60	1.21	19.9	15.22	207.9	0.98	1.511	7.38	278.4
9	T.K	E	41	1.89	35.9	44.50	162.7	2.26	22.67	1.03	18.98
10	A.İ	E	80	0.42	10.6	0.92	169.0	2.66	25.34	0.89	53.78
11	H.Ö	E	61	2.08	11.9	32.30	180.8	2.27	33.37	0.55	25.31
12	K.A	E	66	5.09	15.1	15.24	144.6	2.15	59.18	0.27	44.29
13	H.K	E	58	3.84	7.46	9.00	271.6	1.78	53.60	29.76	30.73

4.2. Pnömoni hastalarının lavaj ve plazmalarında ölçülen malondialdehit ve nitrik oksit düzeyleri ile adenozin deaminaz ve ksantin oksidaz aktiviteleri :

Pnömoni grubu hastaların lavaj ve plazmalarında yapılan analizler sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 2'de toplu halde gösterilmiştir.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda bu gruba dahil hastaların lavajlarında MDA düzeylerinin 0.59 $\mu\text{mol/L}$ ile 11.83 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 3.97 ± 1.09), ADA aktivitelerinin 1.51 U/L ile 40.34 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 12.99 ± 2.80), XO aktivitelerinin 0.46 U/L ile 40.15 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 7.41 ± 2.98), NO miktarlarının 162.7 $\mu\text{mol/L}$ ile 795.5 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 341.6 ± 48.0) tespit edilmiştir.

Aynı gruba ait hastaların plazmalarında; MDA miktarlarının 1.45 $\mu\text{mol/L}$ ile 3.69 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 2.45 ± 0.23), ADA aktivitelerinin 4.53 U/L ile 83.60 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 32.95 ± 5.47), XO aktivitelerinin 0.23 U/L ile 8.53 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 3.64 ± 0.79), NO miktarlarının 19.9 $\mu\text{mol/L}$ ile 125.0 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 55.53 ± 9.71) tespit edilmiştir.

Tablo 2: Pnömoni grubu hastaların lavaj ve plazmalarında malondialdehit ve nitrik oksit düzeyleri ile adenozin deaminaz ve ksantin oksidaz aktiviteleri.

no	İsim	cins	yaş	LAVAJ				PLAZMA			
				MDA ($\mu\text{mol/L}$)	ADA (U/L)	XO (U/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	ADA (U/L)	XO (U/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
1	H.A	E	80	4.60	10.9	40.15	524.3	3,48	17.3	1.15	125.0
2	B.D	E	39	3.23	1.51	13.38	235.0	1.52	44.2	2.07	42.50
3	H.Ö	E	82	0.77	10.5	12.55	325.4	2.92	21.6	8.53	55.50
4	Ö.U	E	55	1.15	12.5	4.38	434.8	1.85	38.3	0.46	38.90
5	H.F	E	35	6.52	3.37	3.69	361.6	1.53	30.6	3.46	58.80
6	B.H	E	37	1.06	8.92	9.80	406.8	1.99	31.0	4.27	45.20
7	H.G	E	70	3.76	12.3	3.59	795.5	3.04	83.6	4.61	28.90
8	Ö.C	K	35	4.73	1.97	1.61	218.7	2.04	36.1	7.84	19.90
9	A.K	K	34	11.83	20.50	2.07	189.8	1.68	4.53	7.61	26.20
10	M.Ş	E	45	11.70	40.34	2.53	162.7	3.48	12.0	3.54	28.0
11	A.O	E	21	1.10	14.68	0.46	198.8	1.45	26.1	0.46	40.70
12	Ü.Ç	K	75	0.66	19.89	0.46	288.7	3.69	49.0	0.23	92.20
13	A.Ö	E	68	0.59	11.41	1.70	298.3	3.28	33.3	3.11	121.0

4.3. Kontrol grubunun lavaj ve plazmalarında malondialdehit ve nitrik oksit düzeyleri ile adenozin deaminaz ve ksantin oksidaz aktiviteleri:

Kontrol grubuna dahil 13 kişiden alınan lavaj ve plazmalarında yapılan analiz sonuçları Tablo 3'de gösterilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda kontrol grubuna dahil hastaların lavajlarında; MDA miktarlarının 0.25 $\mu\text{mol/L}$ ile 11.98 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 4,98 \pm 1,25), ADA aktivitelerinin 1.62 U/L ile 26.74 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 95,04 \pm 19,13), XO aktivitelerinin 0.23 U/L ile 2.99 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 1,32 \pm 0,20), NO miktarlarının 144.6 $\mu\text{mol/L}$ ile 461.0 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD;242,4 \pm 24,90) tespit edilmiştir.

Aynı gruba ait hastaların plazmalarında ölçülen; MDA miktarlarının 0.66 $\mu\text{mol/L}$ ile 9.19 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 2,58 \pm 0,62), ADA aktivitelerinin 3.60 U/L ile 81.97 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 32,43 \pm 6,01), XO aktivitelerinin 0.23 U/L ile 5.07 U/L arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 1,62 \pm 0,36); NO miktarlarının 13.56 $\mu\text{mol/L}$ ile 208.8 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği (ortalama \pm SD; 61,25 \pm 17,70) tespit edilmiştir

Tablo 3. Kontrol grubunda bulunan hastaların lavaj ve plazmalarında malondialdehit ve nitrik oksit düzeyleri ile adenozin deaminaz ve ksantin oksidaz aktiviteleri.

no	İsim	Cins	yaş	LAVAJ				PLAZMA			
				MDA ($\mu\text{mol/L}$)	ADA (U/L)	XO (U/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	ADA (U/L)	XO (U/L)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
1	M.İ	E	70	10.69	2.67	2.99	189.8	2.33	44.88	1.60	37.06
2	M.T	E	74	10.03	26.74	1.02	325.4	2.76	21.86	0.62	47.00
3	A.K	E	56	1.08	6.97	0.98	461.0	2.52	62.79	2.76	126.5
4	P.D	E	48	11.98	10.82	1.38	236.1	9.19	29.89	0.23	39.77
5	D.Ü	K	37	0.25	11.62	0.69	246.2	1.60	32.42	2.63	28.92
6	M.Y	E	28	2.37	1.62	0.23	153.6	1.68	23.72	1.61	13.56
7	M.G	E	52	1.73	19.84	0.76	189.8	2.69	3.604	5.07	24.40
8	O.B	E	60	1.12	7.92	1.34	144.6	0.81	81.97	0.69	169.0
9	E.D	K	70	2.96	9.27	1.18	198.8	4.55	35.34	0.63	20.79
10	N.Ç	E	30	0.95	7.52	0.89	171.7	0.66	5.465	1.61	18.08
11	A.B	E	57	11.66	7.46	2.30	352.5	0.92	20.69	1.57	208.8
12	F.G	K	34	6.48	6.82	1.96	237.5	1.53	39.53	0.46	31.64
13	H.H.U	E	33	3.53	4.22	1.47	243.2	2.40	19.30	1.63	30.73

Tablo 4. Akciğer kanseri, pnömoni ve kontrol gruplarının bronşial lavaj sıvısında ölçülen XO ve ADA aktiviteleri ile NO ve MDA miktarlarının ortalamaları ve istatistiksel p değerleri.

	NO($\mu\text{mol/L}$)	MDA($\mu\text{mol/L}$)	ADA(U/L)	XO(U/L)
1. AC Kanseri (n=13)	286.9 \pm 40.4	2.80 \pm 0.55	11.28 \pm 2.44	12.12 \pm 3.80
2. Pnömoni (n=13)	341.6 \pm 48.0	3.97 \pm 1.09	12.9 \pm 2.80	7.41 \pm 2.98
3. Kontrol (n=13)	242.4 \pm 24.9	4.98 \pm 1.25	9.50 \pm 1.91	1.32 \pm 0.20
p Değerleri				
1-2	a.d.	a.d.	a.d.	a.d.
2-3	a.d.	a.d.	a.d.	a.d.
1-3	a.d.	a.d.	a.d.	p<0.05

a.d.: anlamlı değil.

Tablo 5. Akciğer kanseri, pnömoni ve kontrol gruplarının plazmalarında ölçülen XO ve ADA aktiviteleri ile NO ve MDA miktarlarının ortalamaları ve p değerleri.

	NO($\mu\text{mol/L}$)	MDA($\mu\text{mol/L}$)	ADA(U/L)	XO(U/L)
1. AC Kanseri (n=13)	104.68 \pm 34.43	2.04 \pm 0.17	26.14 \pm 4.37	6.50 \pm 2.87
2. Pnömoni (n=13)	55.53 \pm 9.7	2.45 \pm 0.23	32.95 \pm 5.47	3.64 \pm 0.79
3. Kontrol (n=13)	61.25 \pm 17.70	2.58 \pm 0.62	32.42 \pm 6.0	1.62 \pm 0.36
p Değerleri				
1-2	a.d.	a.d.	a.d.	a.d.
2-3	a.d.	a.d.	a.d.	a.d.
1-3	a.d.	a.d.	a.d.	a.d.

a.d : anlamlı değil.

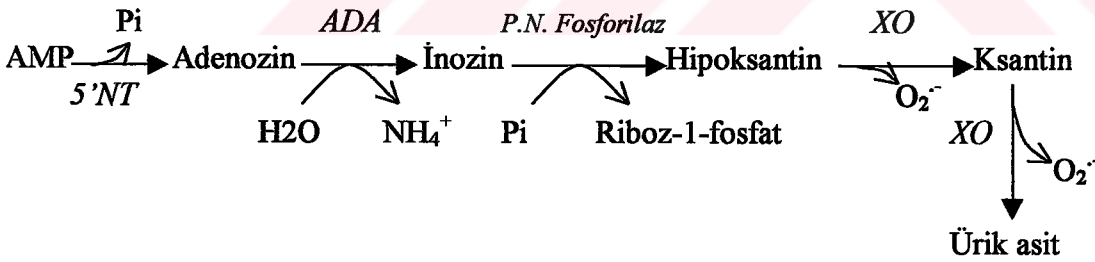
Kontrol ve hasta grubunda bulunan şahısların lavaj ve plazmalarında ölçülen XO ve ADA aktiviteleri ile NO ve MDA miktarlarının istatistiksel olarak karşılaştırılma sonuçları tablo 4 ve tablo 5'de toplu olarak gösterilmektedir.



TARTIŞMA

Akciğer kanserinin tedavisinde en temel öğelerden birisi tanının zamanında ve kesin olarak konabilmesidir. Tanı için en basit fizik muayeneden invazif biopsi tekniğine kadar bir seri yöntem vardır. Bu çalışmada birbiriyle ilgili olduğunu düşündüğümüz parametreleri (nitrik oksit, malondialdehit, adenozin deaminaz ve ksantin oksidaz) elde edilmesi kolay ve hastaya yükü az olan plazma ve bronş-yıkama sıvısında çalışarak bunun tanı açısından değeri olup olmadığını araştırdık. Çalışmamıza pnömoni hastalarını da dahil ederek bu hastalıkta adı geçen parametrelerde herhangi bir değişiklik olup olmadığını da araştırdık. Her iki hastalık grubunda da lavaj sıvısı ADA ve XO aktiviteleri hem akciğer kanseri hem de pnömonide yüksek bulunmakla birlikte sadece kanserli hastaların XO aktivitesi kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). XO aktivitesinde kontrole göre yüksek değerler plazmada da gözlenmekle birlikte bunlar istatistiksel açıdan anlamsızdı.

Adenozin deaminaz (ADA) enzimi pürin nükleotidlerinin katabolizmasında (Şekil 1), adenozinin inozine çevrilmesi aşamasında görev alır. Molekülden bir amino grubunun amonyak halinde ayrılmasını sağlar.



Sekil 1. Hücrede Purin Nükleotitlerinden Adenozinin yıkım aşamaları

Otozomal resesif olarak geçişli olan şiddetli ADA yetmezliklerinde kombine (T ve B hücreleri) immun yetmezlik ve deoksiadenozinüri gibi klinik durumlar görülmektedir (73). Bazı insan kanserlerinde gerek kanserli doku ve etraf dokusu, gerekse vücut sıvılarında ADA aktivitesi çalışılarak hem kanserin etyopatogenezi araştırılmış, hem de kanser teşhisinde yararlı bir parametre olup olmayacağı tartışılmıştır.

Durak ve arkadaşlarının kanserle ilgili çalışmalarında (68), kanserli ve kansere komşu larinks dokularında ADA aktivitesini oldukça düşük bulmuşlar, bu azalmanın ADA'nın substratları olan adenozin ve deoksiadenozin birikimine neden olacağını ileri sürmüşlerdir. Bu substratların birikiminin kuvvetli bir ribonukleotid reduktaz inhibitörü olan dATP birikimini sonuç vereceği, bunun da DNA sentezinin inhibisyonuna sebep olacağını savunmuşlardır. Dolayısıyla ADA aktivitesindeki düşüş bir kontrol mekanizması olabilir. Aynı araştırmacılar mesane kanserinde kanserli doku ve kansere komşu kansersiz dokuda ADA aktivitesini kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (74). Bunu da araştırmacılar kanserli mesane dokularında pürin turnoverinin arttığı ve "kurtarma yolu" aktivitesinin arttığı şeklinde yorumlamışlardır. Bazı çalışmalarda bu bulguyu destekler tarzda neoplastik insan dokularında pürin kurtarma yolu aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir (75,76). Bunların hepsi doku hiperproliferasyonuna cevap olarak hızlı DNA sentezi için gerekli pürin nükleotidlerini "kurtarma yolu"ndan elde etmek üzere gelişen ikincil bir fenomen olarak değerlendirilmektedir. Akyol ve arkadaşları (77) beyin tümörlerinin bazı tiplerinde (astrozitoma, melanoma, glioblastoma multiforme) ADA aktivitelerini kontrol beyin dokularına göre düşük bulmuşlar ve yorumunu daha önceki larinks çalışmasına (68) benzer olarak yapmışlardır.

Ksantin oksidaz (XO) enzimi yine pürin nükleotidlerinin katabolizmasında en son iki basamakta görev alan ve ürik asit oluşumunu sağlayan enzimdir (Şekil 1). Bu enzimin en önemli özelliklerinden biri normal hücre koşullarında büyük bir yüzdesinin ksantin dehidrogenaz (XOH) olarak bulunmasıdır. XO kataliz esnasında süperoksit anyonu (O_2^-) oluştururken XOH serbest radikal üretmemektedir. XO enzimi de ADA gibi birçok kanser türünde doku seviyesinde çalışılmış ve birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda kanserli dokuda XO aktivitesi artmış bulunurken (68,77,78) diğerlerinde azalmış (77,79,72) bulunmuştur. Artmalar, tümör dokularında pürin metabolizmasının, dolayısıyla DNA turnoverinin artmış olabileceği ve kurtarma yolu aktivitesinin azalacağı şeklinde, azalmalar ise tümör hücresi ihtiyaç hissettiğinden dolayı pürin kurtarma yolunun hızlandığı ve bu şekilde kendine avantaj sağladığı şeklinde yorumlanmıştır.

Bazı organ ve doku kanserlerinde vücut sıvılarında da ADA ve XO aktiviteleri ölçülmüş ve hem patofizyolojik hem de tanısal değeri tartışılmıştır. Durak ve arkadaşları (80), mide kanserinde mide suyu ADA ve XO aktivitelerini ölçmüş, kontrole göre ADA aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığını, XO aktivitesinin ise aktivite 'mililitre' cinsinden verildiğinde değişmediğini tespit etmişlerdir. Bu bulgulardan hareketle mide suyunda bu enzimlerin azaldığı, aktivitelerinin ölçülmesinin diagnostik açıdan bir değer taşıyabileceği vurgulanmıştır. Başka bir çalışmada (55) larinks kanserli hastaların kanları hem preoperatif hem de postoperatif dönemde alınarak ADA aktiviteleri ölçülmüş, preoperatif serum değerleri ile postoperatif 7. ve 30. günlerdeki serum değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte sağlıklı kontrol grubuna göre kanserli hastalarda ADA aktiviteleri yaklaşık olarak 2 kat daha yüksek bulunmuştur. Daha başka kanser çalışmalarında da (81,82,83) serum ADA aktivitelerinde artış tespit edilmiş fakat diğer bazı araştırmacılardan (82,84) farklı olarak bunun diagnostik açıdan önemli olamayacağı sonucuna varılmıştır. ADA ve XO aktivitelerinin akut lenfositik lösemili hastalardan (ALL) elde edilen serebrospinal sıvı ve serumda bakıldığı başka bir çalışmada (85); ADA aktivitesi serebrospinal sıvıda bütün ALL subgrupları ile kontrol grubunda aynı çıkmakla beraber serumda T-hücre ALL grubunda B-hücre ALL ve kontrol gruplarına göre oldukça yüksek çıkmıştır. cALLA(+) B-hücre ALL grubunda serum ADA aktivitesi cALLA (-) B hücre ALL grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuş, bu enzimin hem B-hücre ALL alt gruplarının ayırıcı tanısında hem de T-hücre ALL ve B-hücre ALL'nın ayırıcı tanısında iyi bir ek biyokimyasal belirteç olabileceği, diğer araştırma sonuçları (86) ile paralel olarak ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada serum XO aktivitesinin de T ve B hücre ALL ayırıcı tanısında ek biyokimyasal belirteç olabileceği belirtilmiştir.

Genel olarak akciğer hastalıkları ile ilgili ADA aktivitesinin tanısal bir belirteç olarak kullanılması, üzerinde durulan bir konudur. Akciğer tüberkülozunda gerek plevral efüzyonlarda (54,87) ve serebrospinal sıvıda (88) gerekse serumda (55,89,90) tanısal amaçlı olarak ADA aktiviteleri ölçülmüş hemen hemen bütün çalışmalarda önemli bir marker olduğu, sensivite ve spesifitesinin yüksek olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmalarda plevral efüzyonlardan daha ziyade serum analizleri ön plana çıkmaktadır. Çünkü serumun elde edilmesi ve analize hazırlanması oldukça kolaydır. Özellikle plevral efüzyonlarda ADA aktivitesindeki yükseklik, burada T-hücre popülasyonundaki artışa, özellikle

bunların immatür ve reaktif olanlarındaki artışa bağlanmıştır. Serumdaki artışın ise sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte yine spesifik bir hücre tipinin artışı veya akciğerdeki nekrozlu alandan lenf yoluyla dolaşıma ADA enziminin karışması olarak değerlendirilebilir.

Toplum kökenli pnömonilerde serum ADA aktivitesi, etkenin tipine göre birbirinden farklılık arz etmektedir (91). Tipik bakteriyel pnömonide serum ADA aktivitesi kontrol grubundan farklı bulunmazken; atipik pnömonide, Coxiella burnetii, Mycoplasma ve Legionella pnömonilerinde serum ADA aktivitesi kontrol grubu serumuna göre oldukça yüksek bulunmuş ve aktivite ölçümünün ucuz ve basit olması dolayısıyla hem teşhis hem de antibiyotik tedavisinin zamanında başlanabilmesi açısından tanısal değerinin olduğu ileri sürülmüştür. Adı geçen çalışmanın dışında, tipik bakteriyel pnömoni ve toplum kökenli pnömonilerde yüksek serum ADA aktivitesinin prognostik rolünün tartışıldığı başka çalışmalar da yapılmıştır (92,93).

Yıldırım ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (53), küçük hücreli akciğer kanseri, squamoz hücreli akciğer kanseri, adenokarsinoma ve malign mezoteliomalı hastaların serum ADA aktivitesini ölçmüş, kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında aralarında herhangi bir farkın olmadığını tespit etmişlerdir. Sadece malign plevral mezotelioma gurubunun serum ADA aktivitesi squamoz hücreli akciğer kanseri gurubuna göre istatistiksel açıdan yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada bizim çalışmamıza paralel olarak serum ADA aktivitesinin akciğer kanseri teşhisinde iyi bir tanısal parametre olarak kullanılamayacağı görüşü ileri sürülmüştür. Diğer taraftan plevral efüzyon ADA aktivitesinin neoplastik ve lenfomanın ayırıcı tanısında ek bir belirteç olabileceği gösterilmiştir (55). Neoplastik ve lenfoma orjinli plevral efüzyonda tespit edilen ADA aktivitesi tüberküloz hariç diğer plevral efüzyonlar (viral, embolizm, lupus ve ilaç kaynaklı) kontrol grubu olarak alındığında oldukça yüksek bulunmuştur.

Yaptığımız literatür araştırmalarında akciğer kanseri ve pnömonide ADA ve XO aktivitelerinin plazma ve bronşial yıkama sıvısında ölçüldüğü herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Serum ve plevral efüzyonda ADA aktivitesinin ölçüldüğü yukarıda bahsi geçen araştırmalar dışında araştırma mevcut değildir. Çalışmamızda bronşial yıkama sıvısını tercih etmemizin sebebi; gerek kanser, gerekse pnömonide akciğer dokusu ve özellikle epitel hücrelerinde meydana gelecek değişikliklerin en kısa yolla salgı yoluyla

bronş-bronşiol boşluğuna yansiyacağı düşüncesi idi. Bu tercihimizi destekleyecek bazı deliller mevcuttur (80,88,94). Lavaj sıvısında ADA aktivitesinin değil ama XO aktivitesinin istatistiksel açıdan anlamlı olarak artmış olmasının klinik diagnostik açıdan bir önemi olabilir. XO enzimi ADA'nın katalizlediği reaksiyondan daha sonraki basamakta ve aynı yolda görev alan bir enzimdir. Pnömoni grubunda da XO aktivitesi artışı vardır ama bu istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Lavaj ADA aktivitesinde kontrol grubu ortalamasına göre akciğer kanserinde %16'lık, pnömonide ise %27'lik bir artış vardır, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. Kanserde hücrelerin proliferasyonu ile birlikte yüksek bir DNA-turnoveri meydana gelmektedir. Bu yükselmelerin kaynağı muhtemelen kanserli hücrelerin hızlı bir mitoz-poliferasyon fazına girmesi nedeni ile meydana gelen enzim aktivitesi artışıdır. Pnömonideki artış ise dokuda ve ortamda hücre popülasyonunun artışına bağlanabilir. Akciğer kanseri ve pnömonide plazma XO aktiviteleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi. Aslında bu bulgu da bronşial yıkama sıvısındaki sonucu destekler mahiyettedir.

Malondialdehit (MDA), hücre membranı ve organel membranlarında, ayrıca lipoproteinlerde bulunan çok sayıda doymamış yağ asidini içeren fosfolipidlerin poliferasyonu sonucu açığa çıkan bir son üründür. Oluşması esnasında olayın meydana geldiği hücrel bölgede yapısal ve fonksiyonel bazı anormallikler meydana gelirken MDA oluştuktan sonra kendisi de hücrel yapılara zararlı bir bileşiktir. Son yıllarda iskemi ve hipooksijenasyonlar başta olmak üzere hücrel ve dokusal hasarın meydana geldiği düşünülen bütün patolojilerde MDA veya daha geniş anlamda thiobarbituric acid-reactant substances (TBARS) seviyesinin ölçülmesi; hem olayın varlığının kontrol edilmesinde hem de sürecin takibinde bir ölçü olarak alınmaktadır (95,96,97). Asbestoz maruziyetinde plazma MDA seviyesinin nasıl değiştiğinin araştırıldığı çalışmalarda (60,98), akciğer dokusunda lipid peroksidasyonunun artması nedeniyle MDA'nın arttığı bulunmuştur. Sigara içimi ve akciğer kanseri arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada (99) ameliyat sonrası elde edilen tümörsüz akciğer dokusunda MDA seviyeleri ölçülmüş, sigara içenlerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada MDA seviyesi yüksek olanlarda akciğer kanserine yatkınlığın nisbeten arttığı tespit edilmiştir. Kanser ve pnömoni gibi akciğerin iki önemli patolojisinde bronşial yıkama sıvısında ve plazmada yaptığımız MDA ölçümlerinde kontrol grubuna göre herhangi

önemli bir değişiklik tespit edemedik. Bütün gruplarda MDA seviyesinin birbirine yakın çıkması, bu hastalıkların tespit edilebilecek kadar lipid peroksidasyonu oluşturamadığı veya oluşturdu ise hastalık süreci içinde bunun antioksidan sistem tarafından tolere edildiği şeklinde yorum yapılabilir. Bu sonuçlara göre bu hastalıkların meydana geliş ve seyirlerinde lipid peroksidasyonu son ürünlerinin tanısal açıdan bir önemlerinin olmayacağı düşünülebilir.

Nitrik oksit sentazlarca üretilen NO'nin vücutta normal fizyolojik süreçte immün sistem, sinir sistemi ve kardiyovasküler sistemde bir haberci molekül gibi davrandığı bilinmektedir (100). Nitrik oksitin fizyolojik etkilerinin dışında inflamasyonu arttırdığı (101), 5-80 ppb dozda inhale edildiğinde pulmoner arter basıncını arttırdığı (102), akut solunum zorluğu sendromunda (ARDS) miktarının arttığı (103), ratlarda pulmoner granülomatöz inflamasyonda fonksiyonu olduğu (104), hücresele glutatyon seviyesini düşürdüğü (105), yüksek konsantrasyonlarda endotel sitotoksitesisi yaptığı (106) gösterilmiştir. Bu çalışmayı planlarken NO ve XO parametrelerini seçmemizin nedenlerinden biri de kanser ve pnömonide ortak bir reaksiyon üzerinden dokuya daha zararlı etki yapacak ara ürünleri oluşturup oluşturamayacaklarını açığa kavuşturmak. XO'nun bir yan ürünü olan O_2^- , NO ile birleşerek hücresele ve doku seviyesinde oldukça toksik olan peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturmaktadır (reaksiyon 1). Bu bileşik daha sonra ortamdan bir proton alarak en potent oksijen radikali olan $^{\bullet}OH$ 'ni oluşturabilir (Reaksiyon 2)



Böyle bir durumda olayın meydana geldiği hücre veya doku kompartmanında daha ileri hasarlar oluşabilir. Bronşial-yıkama sıvısında NO seviyeleri kanser ve pnömonili grupta kontrol grubu ile aynı bulundu. Ancak plazma NO seviyesi istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kanser grubunda kontrole göre yüksek bulundu. Süperoksit radikalinin temel endojen kaynaklarından biri olarak bilinen XO aktivitesi hem bronşial-yıkama sıvısı hem de plazmada hasta gruplarında kontrole karşılaştırıldığında daha yüksek bulundu. Bunlardan sadece kanserli hastaların lavaj sıvısında bulunan XO düzeyi anlamlı olarak ($p<0.05$) kontrolden yüksekti. Böyle bir durumda yukarıdaki reaksiyonların gerçekleşerek kanserli dokuda ve etrafında lipid

peroksidasyonunu arttırabileceği yorumunu yapmak oldukça zordur. Zaten MDA düzeyinin hasta ve kontrol gruplarında birbirinden farklı çıkmaması bu bulguyu ve sonucu destekler mahiyettedir. Yapılan bazı araştırmalarda NO'in dokuda oksidan hasarı arttırmaktan ziyade önlediği de öne sürölmüştür (107,108).

Sonuç olarak, bronşial yıkama sıvısı XO aktivitesi tayini daha ileri çalışmalarla desteklendiği takdirde akciğer kanserine diagnostik açıdan yaklaşımda önemli bir parametre olabilir. Her ne kadar pnömonili hastaların lavaj sıvısındaki XO aktivitesi yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı olmadığından diagnostik yaklaşımda faydalı ek bir yaklaşım olmayacağı düşünceindeyiz. Plazmadaki aktivitesi de her iki hastalık için diagnostik bir değer taşımamaktadır. Aynı metabolik yolun diğer enzimi olan ADA aktivitesinde önemli bir değişikliğin bulunmaması, bu hastalıklarda enzim aktivitesinin stabil kaldığı anlamını taşıyabilir.

ÖZET

Bu çalışmada akciğer kanseri (n=13) ve pnömoni (n=13) tanısı konmuş hastaların bronşial yıkama sıvıları ve plazmalarında; lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri, bir mediatör ve serbest radikal olan nitrik oksit (NO) düzeyleri ile pürin katabolizmasında görev alan adenzin deaminaz (ADA) aktivitesi ve hem pürin katabolizmasında görev alan hem de bir serbest radikal üreticisi olan ksantin oksidaz (XO) aktivitesi ölçüldü. Elde edilen sonuçlar kontrol grubunun (n=13) değerleri ile karşılaştırıldı.

Akciğer kanseri olan hastaların lavaj sıvılarından ADA aktivitesi 11.28 ± 2.44 U/L, XO aktivitesi 12.12 ± 3.80 U/L, NO düzeyi 286.8 ± 40.42 $\mu\text{mol/L}$, MDA miktarı 2.80 ± 0.55 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü. Bu grubun plazmalarında ise ADA aktivitesi 26.14 ± 4.37 U/L, XO aktivitesi 6.50 ± 2.87 U/L, NO miktarı 104.6 ± 34.43 $\mu\text{mol/L}$, MDA miktarı 2.04 ± 0.17 $\mu\text{mol/L}$ bulundu.

Pnömoni grubunda bulunan hastaların lavaj sıvılarından ADA aktivitesi 12.9 ± 2.81 U/L, XO aktivitesi 7.41 ± 2.98 U/L, NO miktarı 341.6 ± 48.0 $\mu\text{mol/L}$, MDA miktarı 3.97 ± 1.09 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü. Bu grubun plazmalarında ise ADA aktivitesi 32.95 ± 5.47 U/L, XO aktivitesi 3.64 ± 0.79 U/L, NO miktarı 55.53 ± 9.70 $\mu\text{mol/L}$, MDA miktarı ise 2.45 ± 0.23 $\mu\text{mol/L}$ bulundu.

Kontrol grubunda bulunan hastaların lavaj sıvılarından ADA aktivitesi 9.50 ± 1.91 U/L, XO aktivitesi 1.32 ± 0.20 U/L, NO miktarı 242.4 ± 24.90 $\mu\text{mol/L}$, MDA miktarı 4.98 ± 1.25 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü. Aynı grubun plazmalarında ise ADA aktivitesi 32.42 ± 6.01 U/L, XO aktivitesi 1.62 ± 0.36 U/L, NO miktarı 61.25 ± 17.70 $\mu\text{mol/L}$ ve MDA miktarı 2.58 ± 0.62 $\mu\text{mol/L}$ bulundu.

Akciğer kanserli ve pnömonili hastaların lavaj sıvısı ve plazmalarında yapılan ölçümler arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. Sadece akciğer kanseri grubunun lavaj sıvısındaki XO aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artma gözlemlendi ($p < 0.010$). Sonuçlar literatürün ışığında tartışıldı. Çalışılan parametrelerde istatistiksel olarak fark bulunamaması, akciğer kanseri ve pnömonide bu parametreler arasında herhangi ciddi bir sebep-sonuç ilişkisi olmadığını göstermektedir.

SUMMARY

In this prospective study, malondialdehyde (MDA), an index of the invivo lipid peroxidation; nitric oxid (NO), a free oxygen radical and mediator; adenosine deaminase (ADA), an enzyme participating in purine nucleotide catabolism; and xanthine oxidase (XO), an enzyme which has function in both purine catabolism process and free oxygen radical metabolism as a superoxide generator, parameters were studied in bronchial washing fluid (BWF) and plasma from patients with lung cancer (n=13) and pneumonia (n=13). Control group (n=13) was age- and sex-matched subjects who are following up for certain complaints by the Department of Pulmonary Medicine.

ADA and XO activities and NO and MDA levels were found to be 11.28 ± 2.44 U/L, 12.12 ± 3.80 U/L, 286.9 ± 40.42 $\mu\text{mol/L}$, 2.80 ± 0.55 $\mu\text{mol/L}$, respectively in BWF from patients with lung cancer. On the other hand, plasma activities and concentrations of these enzymes and chemicals were found to be 26.1 ± 4.37 U/L, 6.50 ± 2.87 U/L, 104.6 ± 34.43 $\mu\text{mol/L}$, 2.04 ± 0.17 $\mu\text{mol/L}$.

In pneumonia group; ADA activities were found to be 12.99 ± 2.80 U/L in BWF and 32.95 ± 5.47 U/L in plasma; XO activities were found to be 7.41 ± 2.98 U/L in BWF and 3.64 ± 0.79 U/L in plasma ; NO levels were found to be 341.6 ± 48.0 $\mu\text{mol/L}$ in BWF and 55.53 ± 9.70 $\mu\text{mol / L}$ in plasma; and MDA levels were found to be 3.97 ± 1.09 $\mu\text{mol/L}$ in BWF and 2.45 ± 0.23 $\mu\text{mol/L}$ in plasma.

When the biochemical analyses were made in control subjects; ADA activities were found to be $9,50 \pm 1,91$ U/L in BWF and $32,42 \pm 6,01$ U/L in plasma; XO activities were found to be $1,32 \pm 0,20$ U/L in BWF and $1,62 \pm 0,36$ U/L in plasma; NO levels were found to be $242,4 \pm 24,90$ $\mu\text{mol/L}$ in BWF and $61,25 \pm 17,70$ $\mu\text{mol/L}$ in plasma; MDA levels were found to be $4,98 \pm 1,25$ $\mu\text{mol/L}$ in BWF and $2,58 \pm 0,62$ $\mu\text{mol/L}$ in plasma.

In a general view there were no statistically significant difference in the parameters studied between the study and control groups. There was a statistically significant increase in XO activity in BWF from patients with lung cancer compared to control group ($p < 0.010$). Plasma XO activity was remarkably increased in both lung cancer and pneumonia groups compared to control group, but it was not statistically significant. The results were discussed in the light of the literature. The present results

have suggested that there were no meaningful relationships between cancer and pneumoniae and the parameters studied (i.e, nitric oxide, malondialdehyde and adenosine deaminase).



KAYNAKLAR

1. Fraser RS, Pare JAP, Fraser RG, Pare PD. Synopsis of diseases of the chest. W.B.Saunders Company, 1994, PP. 445-538.
2. Johnson DH. Introduction: Lung cancer. Semin Oncol 1997; 24(4): 387.
3. Johanson WG Jr, Harris GO, Aspiration pneumonia, anaerobic infections and lung abscess. Med Clin North Am 1980; 64: 699.
4. Boyacı H, Gündoğdu C, Karalezli A, Ünsal M, Dursun G, Özkul M, Akciğer kanserlerinde serum tissue polypeptide antijen (TPA) düzeyinin tanı değeri. Solunum Hastalıkları. 1996; 7(2): 179-189.
5. Akkoçlu A, Öztürk C, Akciğer Kanseri (Multidisipliner Yaklaşım).Çavdar T, Ekim N (ed.) 1. Baskı. Eylül 1999; 5, 17-21.
6. Gözü A, Erman M, Gülhan M, Çopur S, Samurkaşoğlu B, Akciğer kanserlerinde kemoterapiye tümör cevabının değerlendirilmesinde fiberoptik bronkoskopi ve komputere toraks tomografisinin karşılaştırılması. Solunum Hastalıkları. 1995; 6(3): 405-413.
7. Ayesh R, Idle JR, Ritchie JC, Crothers MJ, Hetzel MR, Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer. Nature 1984; 312: 169-170.
8. Çopur S, Başay N, İlhan N, Gülhan M, Örüç O. Akciğer kanserlerinde eğilim. Respiratory Diseases 1995; (3): 363-370.
9. Kouri RE, McKinney CE, Slomeany DJ, Snodgrass Dr, Wray NP, McLemore TL, Positive correlation between high aryl hydrocarbon hydroxylase activity and primary lung cancer as analyzed in cryopreserved lymphocytes. Cancer Res 1989; 42:5030-5037.
10. Savaş I, Kaya A. Solunum Sistemi ve Hastalıkları.(Ed.Numanoğlu N.) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını. 1997: 233-253.
11. Obaro SK, Monteil MA, Henderson DC : The pneumococcal problem. BMJ 1996; 312: 1521-5.
12. Fedson D: Pneumococcal vaccine . In: Plotkin SA, Orenstein W, editors. Vaccines, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998.
13. The WHO Young Infants Study Grup: The etiologi of serious bacterial infection in young infants in four developing countries, Pediatr Infect Dis J (in press).

14. Adams JG, Deaver KA, Cochi SL, et al. Decline of childhood Haemophilus influenzae type b (Hib) vaccine era. JAMA 1993; 269: 221-6.
15. K.Mulholland. Pnömonokok hastalıklarının kontrolü için stratejiler. Vaccine. 1999; 317-318.
16. Şahin A, Çöplü L, Emri S, Kalyoncu F, Barış B, Selçuk ZT, Karakoca Y, Kısacık G, Demir A.U, Fındık S, Seyhan S. Solunum Hastalıkları Temel Yaklaşım. Barış İ, (ed).1995; 2. Baskı. 307-329
17. Karnad A, Alvarez S, Berk SL: Pneumonia caused by gram- negative bacilli. Am J Med .1985; 79 (Suppl 1A): 61.
18. Özdemir T, Meriç N, Öğüş C, Kodak A, Vural T, Günseren F, Akdeniz Üniversitesi Tıp Hastanesi'ndeki Pneumocystis Carinii Pnömonisi Olguları. Tuberculosis and Thorax. 1997; 3: 210-14.
19. Reynolds HY. Respiratory infections and the Acquired İmmunodeficiency Syndrome (AIDS). In: Bone RC, ed. Pulmonary and Critical Care Medicine. Saint Louis: Mosby Year Book. Inc. 1992; (J-3) 1-6.
20. Honda J, Hoshino T, Natori H. Rapid and sensitive diagnosis of cytomegalovirus and pneumocystis carinii pneumonia in patients with haematological neoplasia by using capillary polymerase chain reaction. Br J Haematol 1994; 86: 188-42.
21. Miller R.HIV-associated respiratory disease. Lancet 1996; 348: 307-11.
22. Safrin S, Finkelstein D, Feinberg J, Comparison of three regimens for treatment of mild to moderate pneumocystis carinii pneumonia in patients with AIDS . Ann In Med 1996; 124: 792-802.
23. Jarrousse B. Pneumocystis carinii pneumoniae: An opportunistic infectious risk associated with systemic diseases and their treatment . Presse-Med 1996; 25:331-2.
24. Seaton A, Seaton D, Leitch AG, Parasitic Diseases of the Lung. In: Crofton and Douglas's Respiratory Diseases. 4th ed. London: Blackwell Scientific Publications. 1989: 476-89.
25. Yale SH, Limber AH, Pneumocystis carinii pneumonia in patients without Acquired Immunodeficiency Syndrome: Associated illness and prior corticostreoid therapy. Mayo Clin Proc 1996; 71: 102-3.

26. Von Eiff M, Zuhisdorf M, Roos N, Pulmonary infiltrates in patients with haematologic malignancies: Clinical usefulness of non-invasive bronchoscopic procedures. *Eur J Haematol* 1995; 54: 157-62.
27. Silletti R, Glezerov V, Schwartz I. Pulmonary paracoccidioidomycosis misdiagnosed as pneumocystis pneumonia in an immunocompromised host. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2328-30.
28. Young LS. *Pneumocystis carinii*. In: Pennington JE, ed. *Respiratory infections diagnosis and management*. 3rd ed. New York: Raven Press, 1994: 679-94.
29. Black S, Shinefield H, Ray P, Lewis E, Fireman B. The Kaiser Permanente Vaccine Study Group, Austrian R, Siber G, Hackell J, Kohberger R, Chang I: Efficacy of heptavalent conjugate pneumococcal vaccine (Wyeth Lederle) in 37000 infants and children results of the Northern California Kaiser Permanente Efficacy Trial, 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Diego, Sept. 24-27, 1998.
30. Briles De, Tart RC, Swiatlo E, Dillard JP, Smith P, Benton KA, Ralph BA, Brooks-Walter A, Crain MJ, Hollingshead SK, McDaniel LS, Pneumococcal diversity: considerations for new vaccine strategies with emphasis on pneumococcal surface protein A (PspA). *Clin Microbiol* 1998; 6:85-7.
31. Hausdorff WP, Prospects for the use of new vaccines in developing countries: cost is not the only impediment. *Vaccine* 1996; 14:1179-86
32. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84:9265-69.
33. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S.: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* . 1988; 333:664-66
34. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol (USA)*. Aug 1993; 54(2):171-8.
35. Henry Y., Ducrocq C, Drapier C, Servent D, Pellat C. & Guissani A. Nitric oxide, a biological effector electron paramagnetic resonance detection of nitrosyl-iron -protein complexes in whole cells. *Eur Biophys J* 1991; 20:1-15.

36. Chung S & Fung H, Identification of the subcellular site for nitroglycerine metabolism to nitric oxide in bovine coronary smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 253:614-619.
37. Gibson QH & Roughton FJW, The kinetics and equilibria of the reactions of nitric oxide with sheep hemoglobin. *J Physiol (London)* 1957; 136:507-526.
38. Bartsch H, Ohshima H & Pignatelli B. Inhibitors of endogenous nitrosation: mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mutation Res* 1988; 202:307-324.
39. Palmer RMJ, Ashton DF, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333:664-666.
40. Geller DA, Lowenstein CJ, Shapiro RA, Nussler AK, Di Silvio M, Wang SC, Nakayama DK. et al. Molecular cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:3491-3495.
41. Nathan C & Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell*. 1994; 78: 915-918.
42. Liu SF, Adcock IM, Old RW, Barnes PJ, Ewans TW. Lipopolysaccharide treatment in vivo induces widespread tissue expression of inducible nitric oxide synthase mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 196:1208-1213.
43. Griffiths MJD, Liu S, Curzen NP, Messant M, Evans TW. In vivo treatment with lipopolysaccharide induces nitric oxide synthase in rat main pulmonary arteries. *Am J Physiol* 1995; 268:L509-L518.
44. Marsden PA, Heng HHQ, Scherer SW, et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem* 1993; 268:17478-17488.
45. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109-141
46. Bredt DS, Hwang PM & Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neuronal role for nitric oxide. *Nature* 1990; 347:768-770.
47. Zapol WM, Rimar S, Gillis N, Marletta M, Bosken CH. Nitric oxide and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:1375-1380.
48. Moncada S, Higgs A. The L-arginine pathway. *N Eng J Med* 1993, 329: 2002-12.

49. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH: Nitric oxide :A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120:227-237.
50. Valance P & Moncada S. Nitric oxide-from mediator to medicines. *J.Roy. Coll. Physicians Lond.* 1994; 28:209-219.
51. Schmidt HHH& Walter U. NO at work. *Cell* 1994; 78:919-925.
52. Stocks J, Dormandy TL. A direct thiobarbituricacid-reacting chromogen in human red blood cell. *Clin Chim Acta.* 1970; 27:117-120.
53. Yıldırım Z, Hasanoğlu H.C, Akyol Ö, Gökırmak M, Köksal N. Serum adenosine deaminase activities in lung cancer and mesothelioma . *Clin Biochem.* 1999;32:283-285.
54. Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Ribera E, Segura RM, Pascual C. Adenosine deaminase activity in the diagnosis of lymphocytic pleural effusions of tuberculous, neoplastic and lymphomatous origin. *Tubercie* 1986; 67:141-145.
55. Kuyucu N, Karakurt C, Bilaloğlu E, Karacan C, Teziç T. Adenosine deaminase in childhood pulmonary tuberculosis: diagnostic value in serum. *J Tropical Pediatr.* 1999; 45: 245-247.
56. Hovi T, Smyth JF, Allison AC,Williams SC. Role of adenosine deaminase in lymphocyte proliferation . *Clin Exp Immunol* 1976; 23:395-403.
57. Hall JG Adenosine deaminase activity in lymphoid cells during antibody production. *Aust J Exp Biol and Med Sci* .1963; 41:93.
58. Carson DA, Seegmiller JE. Effect of adenosine deaminase inhibition upon human lymphocyte blastogenesis. *J Clin Invest.* 1976; 57: 274.
59. Klein CB, Snow ET, Frenkel K. Molecular mechanisms in metal carcinogenesis: role of oxidative stress. In: *Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases* (Eds. Aruoma OI, Halliwell B). OICA International, New York, 1998:79-137.
60. Kamal AAM, el Khafif M, Koraah S, Massoud A, Caillard JF. Blood superoxide dismutase and plasma malondialdehyde among workers exposed to asbestos. *Am J Ind Med.* 1992; 21:353-361.
61. Nacitarhan S, Özben T, Tuncer N. Serum and urine malondialdehyde levels in NIDDM patients with and without hyperlipidemia. *Free Radic Biol Med.* 1995; 19:893-896.

62. Chin D, Kuypers F, Lubin B. Lipid peroxidation in human red cells. *Seminars in Haematology*. 1989; 26:257-276.
63. Altuntaş Y, Güven M, İnce E, Ağbay Ö, Caner M. The invitro effects of captopril on the levels of lipid peroxidation and glutathione of erythrocytes in type II. Diabetics. *Tr J Med Sci*. 1994; 26:139-142.
64. Özgüneş H, Gürer H, Tuncer S. Correlation between plasma malondialdehyde and cruloplasmin activity values in rheumatoid arthritis. *Clin Biochem*. 1995; 28:193-194.
65. Joenje H. Genetic toxicology of oxigen. *Rev Mutation Res*. 1989; 219:193-208.
66. Kavas GÖ. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri*. 1989; 9:1-25.
67. Parks DA, Granger DN. Xantine oxidase: Biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiology. Scand*. 1986;548 (Suppl):87-99;
68. Durak İ, Işık ACÜ, Canbolat O, Akyol Ö, Kavutçu M. Adenosine deaminase, 5'nucleotidase, xantine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in cancerous and noncancerous human laryngeal tissues. *Free Radic Biol Med*. 1993; 15:681-684.
69. Cortas N.K., Wakid W.N. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem*. 1990; 36/8: 1440-1443.
70. Wasovicz W, Neve J, Peretz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction ph and influence of sample preservation and storage. *Clin Chem* 1993;39:2522.
71. Giusti G. Adenosine deaminase. In: *Methods of Enzymatic Analysis* (Ed., Bergmeyer MV), pp1092-8,2 ed. New York: Academic Press, 1974.
72. Prajda N, Weber G. Malign transformation- linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas. *FEBS Lett*. 1975; 59:245-249.
73. Rodwell VW. Metabolizm of purine and pirimidine nucleotides. In: *Harper's Biochemistry* (eds: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW). Appleton & Lange, USA, 1996, pp: 370-385.
74. Durak I, Perk H, Kavutçu M, Canbolat O, Akyol O, Bedük Y. Adenosine deaminase 5' nucleotidase, xantine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in

cancerous and noncancerous human bladder tissues. *Free Radical Biol Med.*1994; 16: 825-831

75. Camici M, Tozzi MG, Allegrini S, Corso AD, Sanfilippo O, Daidone MG, Marco CD, Ipatò PL. Purine salvage enzyme activity in normal and neoplastic human tissues. *Cancer Biochem Biophys.*1990; 11:201-209.

76. Natsumeda Y, Prajda N, Donohue JP, Glaver JL, Welcher G. Enzymic capacities of purine de novo and salvage pathways for nucleotide synthesis in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res.* 1984; 44: 2475-2479.

77. Akyol O, Arslanoğlu R, Durak I. Activities of free radical and DNA turn-over enzymes in cancerous and non-cancerous human brain tissues. *Redox Report.* 1995; 1:255-269.

78. Kokoğlu E, Belce A, Ozyurt E, Tepeler Z. Xanthine oxidase levels in human brain tumors. *Cancer Lett.* 1990; 50:179-181.

79. Prajda N, Donohue JP, Weber G. Increased amidophosphoribosyl-transferase and decreased xanthine oxidase activity in human and rat renal cell carcinoma. *Life Sci.*1981; 29:853-860.

80. Durak I, Ormeci N, Canbolat O, Kavutcu M, Bulbul M. Adenosine deaminase, 5'-nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in gastric juices from patients with gastric cancer, ulcer and atrophic gastritis. *Digest Dis Sci* 1994; 39:721-728.

81. Morisaki T, Fujii H, Miwao S. Adenosine deaminase (ADA) in leukemia. Clinical value of plasma ADA activity and characterization of leukemia cell ADA. *Am J Hematol* 1985; 19:37-45.

82. Lal H, Munjal SK, Wig U, Saini AS. Serum enzymes in head and neck cancer : III. *J Laryngol Otol* 1987; 101:1062-1065.

83. Storch H, Krüger W, Rotzch W. Adenosine deaminase activity in plasma and blood cell of patients with haematological and autoimmune diseases. *Acta Haematologica* 1981; 65:183-188.

84. Van Laarhoven JP, Spirenborg GT, Bakkeren A, Schouten TJ, De Byrn C H, Geerts SJ Schretlen FO. Purine metabolism in childhood acute lymphocytic anemia: Biochemical markers for diagnosis and chemotherapy *Leukemia Res* 1983; 7:407-20.

85. Büyükberber S, Akyol O, Kavutcu M, Durak I, Aydoğdu I. Activities of adenosine deaminase, xanthine oxidase and superoxide dismutase in sera and cerebrospinal fluids from patients with acute lymphocytic leukemia. *Turkish J Cancer* 1996; 26:97-103.
86. Blatt J, Reaman G, Poplack DG. Biochemical markers in lymphoid malignancy. *N Eng J Med* 1980; 303:918-9.
87. Ocana I, Martinez- Vazquez JM, Segura RM, Fernandez de Sevilla T, Capdevilla JA. Adenosine deaminase in pleural fluids. Test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 1983; 84:51-53.
88. Mishra OP, Loiwal V, Ali-Z, Nath G, Chandra L. Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity for the diagnosis of tuberculous meningitis in children. *J Trop Pediatr* 1996; 42:129-32.
89. Bhargava DK, Gupta M, Nijhavran S, Dasarathy S, Kushwaha KS. Adenosine deaminase (ADA) in peritoneal tuberculosis: diagnostic value in ascitic fluid and serum. *Tubercle* 1990; 71:121-126.
90. Lakshmi V, Rao RR, Joshi N, Rao PN. Serum adenosine deaminase activity in bacillary or paucibacillary pulmonary tuberculosis. *Indian J Pathol Microbiol* 1992; 35:48-52.
91. Molinos L, Fernandez R, Dominquez MR, Riesgo C, Escudero C, Martinez J. Adenosine deaminase activity in the aetiological diagnosis of community-acquired pneumonia. *Scand J Infect Dis* 1997; 29:287-290.
92. Nishikawa H, Suga M, Ando M, Tanaka F, Anoki S. Serum adenosine deaminase activity with *Mycoplasma pneumoniae* (Letter) *Chest* 1988; 94:1315.
93. Klockars M, Klcmola M, Leinonen M, Koskela M. Serum adenosine deaminase in viral and bacterial pneumoniae. *Chest* 1991; 99:623-626.
94. Durak I, Büyükberber S, Akyol O, Canbolat O, Kavutcu M, Turk E. Glutathione peroxidase in serum and cerebrospinal fluid from patients with acute lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 1994; 46:254.
95. Doryani I, La Londe C, Zhu D, Weidner M, Knox J, Demling RH. Effect of endotoxin and a burn injury on lung and liver lipid peroxidation and catalase activity. *J Trauma* 1990; 30:1330-1334.

96. Janoff A. Biochemical links between cigarette smoking and pulmonary emphysema. *J Appl Physiol* 1983; 55:285-293.
97. Riley DJ, Kerr JS. Oxidant injury of the extracellular matrix : potential role in the pathogenesis of pulmonary emphysema. *Lung* 1985; 163:1013.
98. Kamal A-AM, Gomaa A, Elkahafif M, Hammad S. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dusts. *Environ Res* 1989; 49:173-180.
99. Petruzzelli S, Hietanen E, Bartsch H, Camus AM, Mussi A, Angeletti CA, Saracci R, Giuntini C. Pulmonary lipid peroxidation in cigarette smokers and lung cancer patients. *Chest* 1990; 98:930-935.
100. Nathan C and Xie Q. Nitric oxide synthases: Roles, tolls and controls. *Cell* 1994; 78:915-918.
101. Moncada S, Higgs A. The L- arginine- nitric oxide pathway. *New Eng J Med* 1993; 329:2002-2012.
102. Frostell, C. Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapol WM. Inhaled nitric oxide: a selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991; 83:2038-2047.
103. Griffiths MJD, Liu S, Curzen NP, Messant M, Evans TW. In vivo treatment with endotoxin induces nitric oxide synthase in rat main pulmonary arteries. *Am J Physiol* 1995; 268: L509-L518.
104. Setoguchi K, Takeya M, Akaike T, Suga M, Hattori R, Maeda H, Ando M, Takahashi K. Expression of inducible nitric oxide synthase and its involvement in pulmonary granulomatous inflammation in rats. *Am J Pathol* 1996; 149:2005-2022.
105. Walker MW, Kinter MT, Roberts RJ, Spitz DR. Nitric oxide-induced cytotoxicity: Involvement of cellular resistance to oxidative stress and the role of glutathione in protection. *Pediatr Res* 1995; 37:41-49.
106. Palmer RMJ, Bridge L, Foxwell NA, Moncada S. The role of nitric oxide in endothelial cell damage and its inhibition by glucocorticoids. *Br J Pharmacol* 1992; 105:11-12.
107. Koike K, Moore FA, Carl VS, Pitman JS, Bannerjee A. Phospholipase A2 inhibition decouples lung injury from gut ischemia- reperfusion. *Surgery* 1992; 112:173-180.

108. Brooks EC, Mahr NN, Radisavljevic Z, Jacobson ED, Terada LS. Nitric oxide attenuates and xantine oxidase exaggerates lung damage induced gut injury. *Ann J Physiol* 1997; 272:G845-G852.



TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleşmesinde beni yönlendiren, her türlü desteğini ve katkısını gördüğüm danışmanım sayın Doç. Dr. Ömer Akyol'a, laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan sayın Dr. Hüseyin zyurt'a, hasta temini konusunda büyük kolaylık sağlayan sayın Dr. Nurhan Köksal ve Dr. Süleyman Hacıevliyagil'e ve tüm bu süreçte her türlü desteğini gördüğüm sevgili eşime teőekkürlerimi sunarım.

