

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. AHMET MENGİ

**LEKTİN VERİLEN NORMAL VE TÜMÖRLÜ
FARELERDE SERUM, KARACİĞER, BÖBREK
AST, ALT, GGT, ALP, CK AKTİVİTELERİ**

DOKTORA TEZİ

Araş. Gör. KEMAL ÖZDEM ÖZTABAK

İSTANBUL-1998

İÇİNDEKİLER

| | sayfa |
|---|-------|
| 1.TEŞEKKÜR | |
| 2.GİRİŞ VE AMAÇ | 1-2 |
| 3.GENEL BİLGİLER | 3-24 |
| 3.1. Lektinler Hakkında Genel Bilgiler | 3-5 |
| 3.1.1. Lektinlerin Sağlıklı ve Tümörlü Hücre Üst Yüzeylerine Bağlanma Nitelikleri | 3-4 |
| 3.1.2. Bitkisel Kaynaklı Lektinlerin Sağlıklı ve Tümörlü Hücre Hücre Üst Yüzeylerine Bağlanma Nitelikleri | 4-5 |
| 3.2. Ökse Otu (<i>Viscum album Loranthaceae</i>) Hakkında Genel Bilgiler | 6-7 |
| 3.3. <i>Viscum album</i> Aglutinin (VAA) Hakkında Genel Bilgiler | 7-11 |
| 3.3.1. VAA'nın Antitümöral Etkisi | 8-11 |
| 3.4. Tümör Biyokimyası Hakkında Genel Bilgiler | 11-14 |
| 3.4.1. Ehrlich ascites Sıvı Tümörü Hakkında Genel Bilgiler | 14 |
| 3.5. Enzimler Hakkında Genel Bilgiler | 14-24 |
| 3.5.1. Aspartat Amino Transferaz (AST) | 16-17 |
| 3.5.2. Alanin Amino Transferaz (ALT) | 17-19 |
| 3.5.3. Gamma Glutamil Transpeptidaz (GGT) | 19-22 |
| 3.5.4. Alkalen Fosfataz (ALP) | 22-23 |
| 3.5.5. Kreatin Kinaz (CK) | 24 |
| 4.GEREÇ ve YÖNTEM | 25-31 |
| 4.1. Gereç | 25-26 |
| 4.1.1. Örneklerin Toplanması | 26 |
| 4.2. Yöntem | 26-31 |
| 4.2.1. Serum ve Doku AST Tayini | 26-27 |
| 4.2.2. Serum ve Doku ALT Tayini | 27-28 |
| 4.2.3. Serum ve Doku GGT Tayini | 28 |
| 4.2.4. Serum ve Doku ALP Tayini | 28-29 |
| 4.2.5. Serum ve Doku CK Tayini | 29 |
| 4.2.6. Doku Total Protein Miktarı Tayini | 30 |
| 4.2.7. Dokularda Enzim Spesifik Aktivitelerinin Hesaplanması | 30 |

| | |
|---|--------------|
| 4.2.8. Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi | 30 |
| 4.2.9.VAA'nın Hazırlanması | 31 |
| 4.2.10.Histopatolojik Preparatların Hazırlanması | 31 |
| 5.BULGULAR | 32-52 |
| 5.1. Farelerde Enzim Aktivite Düzeyleri | 32-47 |
| 5.1.1. Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek AST Aktiviteleri | 33-35 |
| 5.1.2. Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek ALT Aktiviteleri | 36-38 |
| 5.1.3. Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek GGT Aktiviteleri | 39-41 |
| 5.1.4. Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek ALP Aktiviteleri | 42-44 |
| 5.1.5. Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek CK Aktiviteleri | 45-47 |
| 5.2. Farelerde Canlılık Ağırlık Değişimleri | 48 |
| 5.3. Farelerde Ehrlich ascites Sıvı Tümör Miktarı | 49 |
| 5.4.Histopatolojik Bulgular | 50-52 |
| 6.TARTIŞMA | 53-61 |
| 6.1. VAA'nın Farelerde Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri | 53-60 |
| 6.2. VAA'nın Farelerde Canlı Ağırlıklar Üzerine Etkileri | 60-61 |
| 6.3. VAA'nın Farelerde Ehrlich ascites Sıvı Tümörü Üzerine Etkileri | 61 |
| 7. ÖZET | 62-63 |
| 8. SUMMARY | 64-65 |
| 9. KAYNAKLAR | 66-78 |
| 10. ÖZGEÇMİŞ | 79 |

1.TEŞEKKÜR

Tez Çalışmamı yakın ilgi, uyarıları ve destekleri ile yönlendiren Doktora Danışmanım Sayın Prof. Dr. Ahmet Mengi'ye

Biyokimya Anabilim Dalı'nın Sayın Öğretim Üyelerine ve yardımcı personeline,

Tez yazımım sırasındaki manevi desteğinden dolayı eşim Vet. Hek. Ç.Hepşen Öztabak'a

Ve araştırmama maddi destek sağlayan İstanbul Üniv. Araştırma Fonu Sekreterliğine içtenlikle teşekkür ederim.

2.GİRİŞ VE AMAÇ

Tümörler, canlı vücudundaki hücrelerin, henüz bilinmeyen sebeplerle, düzensiz, sınırsız, amaçsız ve vücut için zararlı bir biçimde üremesi sonucu ortaya çıkan yeni oluşumlardır (1).

Günümüzde tümörlü hastalar hala insanlığın en büyük sorunlarından biri olmaya devam etmektedir. Murray ve ark. (71)'in bildirdiğine göre, 1985 yılında ABD'de 460.000 kişi kanserden ölmüştür ve sayı tüm ölümlerin %25'ni oluşturmaktadır. Yapılan tahmini hesaplamalar, her yıl doğan dört erkekten ve beş kadından birisinin tümörden öleceğini göstermiştir (71). Aslında ölüm oranları bize gerçek tabloyu yansıtmaz. Çünkü günümüzdeki hasta oranları ölümlerden çok daha yüksektir (71). Tümörün bilinen bu özellikleriyle tümörlü hastalar çok büyük fiziki ve ruhsal çöküşe uğrarlar keza tümör tedavisinin çok pahalı olması sadece hastaların maddi açıdan çöküntülerine yol açmayacak, ülke ekonomisi içinde çok büyük mali yükler getirecektir.

Yukarıda vurgulanan nedenlerle bilim dünyası kanser savaşında her yolu denemektedir ve günümüzde klasik tedavi yöntemlerinin yanısıra, özellikle bitkisel kökenli maddelerin kullanıldığı alternatif tedavi yöntemleride denenmektedir (30,73,77).

Ersoy ve Bayşu (20) tümörlerin tedavisinin, tümörlü hücreler ile normal hücreler arasında yapısal farklılıkların bulunmasıyla kolaylaşabileceğini bildirmişlerdir.

Aynı düşünceden hareketle tümör hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarda normal hücrelerin tümör hücresine dönüşmesinde hücre üst yüzeyi

glikoproteinlerinin oligosakkaritlerinde değişimler meydana geldiği saptanmış (Murray ve ark.) ve tümör üst yüzeyindeki bu özel yapılı glikoproteine bağlanabilecek bazı maddeler sayesinde vücudun hücrenel savunma sistemlerince daha kolay tanınıp, yok edilebileceği ileri sürülmüştür (11,20,30).

Bu doğrultuda yapılan çalışmalar sırasında bitkilerden elde edilen ve hücrelerin üst yüzey glikoproteinlerine bağlanabilen lektinlerin, immunsistem hücrelerindeki uyardıkları ve hücre sayıları ve aktivitelerini stimüle ettikleri saptanmıştır (26,37,42,43). Bu etkileriyle lektinlerin tümör tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüş ve lektinlerin antitümöral etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmış, artansayıda çalışmalar yürütölmektedir. Fakat bu etken maddenin yüksek dozlarının da toksik etkili olabileceği ve kullanılabilecek optimal dozların saptanmasının zorunlu olduğu vurgulanmıştır (23,24,31,32).

Bitkisel kökenli olan lektinler birçok değişik bitki türünde bulunmuş ve buldukları bitkiye göre isimlendirilmişlerdir (17,45). Bu lektin türlerinden ökse otundan saflaştırılan *Viscum album* Aglutininin (VAA) antitümöral etkisinin daha güçlü olduğu belirlenmiş, çalışmalar VAA'nın antitümöral etkisi üzerinde yoğunlaşmış, hatta ticari preparatları da piyasaya sürölmüştür (27,38).

Bu nedenle çalışmamızda VAA'nın antitümöral etkileri farelere Ehrlich ascites sıvı tümörünün intraperitoneal (i.p.) olarak verilmesinin ardından iki gün boyunca 100ng/fare VAA verilerek bazı biyokimyasal ve histopatolojik veriler üzerine etkisinin incelenerek yüksek doz VAA uygulamalarının enzim aktiviteleri ve tümör oluşumu üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

3.GENEL BİLGİLER

3.1.Lektinler Hakkında Genel Bilgiler

Franz (23)' a göre ilk kez stillmark tarafından yüksek toksik etkili Ricin adlı bitkiden elde edilen ve eritrositleri çöktürdüğü saptanan lektinlerin virus, bakteri, bitki, hayvan ve insanlarda birçok türünün var olduğu bildirilmektedir (18,23,27,29,48)

Lektinler genellikle glikoproteinlere spesifik olarak bağlanabilen protein yada glikoprotein yapısındaki maddelerdir ve latince kökenli bir kelime olan lektin, seçmek anlamını vermektedir (23).

3.1.1. Lektinlerin Sağlıklı ve Tümörlü Hücre Üst Yüzeylerine Bağlanma Nitelikleri

Yapılan çalışmalarda memeli hayvanlarda da lektin bulunduğu tespit edilmiş ve bu lektinlere "Endojen lektinler" ismi verilmiştir (27,48,51). Bu lektinlerin, insan plasentasında (galektin-1) (26,35,50) ve sığır kalbinde (sarkolektin) bulunduğu öne sürülmüştür (26,35,50,97,98). Endojen lektinler hem tümörlü (26) hemde tümörsüz (50,97,98) dokularda bulunabilmektedir. Fakat bunların görevleri henüz aydınlatılamamış olmakla birlikte Gabius (26) lektinlerin hücre tanıtım mekanizmasında görevli olduklarını düşünmektedir.

Kayser ve ark. (51) N-asetilgalaktozaminli ortamda 10-50 hafta bekletilen insan embriyonik kalp ve karaciğerinde, son haftalara doğru N-asetilgalaktozaminin bu organlardaki galektin-1 ve sarkolektine bağlandığını bildirmişlerdir.

Godt ve Gabius (41)'da jel filtrasyon yöntemiyle 100g. plasentadan sarkolektin saflaştırmışlar ve plasenta sarkolektin düzeyinin 1.5 mg/100g. bulunduğunu bildirmişlerdir.

3.1.2. Bitkisel Kaynaklı Lektinlerin Sağlıklı ve Tümörlü Hücre Üst Yüzeylerine Bağlanma Özellikleri

Lektinler, doğada birçok bitkide tespit edilmişler (23,45,55,59,74,81) ve buldukları bitkilerin adlarıyla ile isimlendirilmişlerdir. Örneğin: Soya fasulyesinden elde edilen lektine "Soya fasulyesi Aglütinin" (SBA), buğday tohumundan elde edilen lektine "Buğday tohumu Aglutinin" (WGA), ökse otundan elde edilen lektine "Ökse otu Aglütinin" (VAA) adı verilmiştir (23,45,96).

Lektinler, hücre yüzeyindeki şeker kalıntılarına spesifik olarak bağlanabilme özelliğine sahiptirler (4,30,36,39,55,59,83). Lektinlerin bu spesifikliğinden yararlanılarak, normal (14,34,85,88,92) ve kanserli (30,40,62,90) hücre yüzeylerine bağlanma özelliklerini inceleyen birçok çalışma yürütülmüştür.

Naritat ve ark. (74) normal ve metastazik mide yüzey mukozası, mide adenomu ile intestinal ve diffuz tip mide karsinomu doku örneklerinde lektin bağlanma biçimini araştırmışlardır. Metastazik mukozada normal mide mukozasına göre sitoplazmada ConA (*Canovalia ensiformis* Aglutinin) bağlanmasında artış, PNA (*Arachis hipogaea* aglutinin), UEA-1 (*Ulex europaeus* Aglutinin) ve DBA (*Dolichos billorus* Aglutinin) bağlanmasında azalma saptamışlardır. İntestinal karsinomlarda sitoplazmada ConA, PNA ve UEA-1 bağlanması mide yüzey mukozasındaki gibi iken, diffuz tip karsinomda sitoplazmada WGA (*Triticum vulgare* Aglutinin) ve UEA-1 bağlanmasının normal mide mukozasındaki gibi olduğunu bildirmişlerdir. Adenomlarda, sitoplazmada ConA ve UEA-1 bağlanması intestinal karsinomlardaki gibi iken, lümenin yüzeyinde ConA ve UEA-1 bağlanmasının intestinal karsinomlardan farklı olduğunu rapor etmişlerdir.

Aoki ve ark. (3) insan kolorektal dokularının parafin kesitleri üzerinde PWMA (Phytolacca americano Aglutinin) ile ışık mikroskopik histokimya çalışması yapmışlardır. Histolojik kesitlerde, normal mukozalarda ve hafif displazi gösteren adenomlarda nöraminidaz olsun veya olmasın negatif sonuç elde ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada araştırmacılar orta derecede displazi gösteren adenomlarda nöraminidazla işleminden sonra PWMA'nın aktivitesinde küçük bir artış olduğunu bulmuşlardır. Bununla beraber Nöraminidazla işleminden sonra kolorektal karsinomada belirgin bir aktivite artışı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu sonuçları insan kolorektal karsinomalarında önemli miktarda PWM reaktifi olan dallanmış Poli-N-asetillaktozamin glikokonjugat yapılarını içerdiği şeklinde yorumlamışlardır.

Gabius ve ark. (36) yaptıkları çalışmada VAA'nın doku kültüründe 45 dakika bekletilmesi sonucunda dalak hücrelerine daha yoğun bir şekilde bağlandığını öne sürmüşlerdir .

Elinger ve Pavelka (17) sıçanlarda kolon kadeh hücrelerinde endoplazmik retikulumun lektinler ile histokimyasal karakterizasyonunu HPA (Helix pomatia Aglutinin), GSA-I (Grifonia simplicifolia Aglutinin), RCA (Ricinus communis Aglutinin), sialik aside spesifik LFA (Limax flavus Aglutinin) ve UEA-I'i kullanılarak incelemişlerdir. Şeker bağlanma deneyleri sonucunda ribozomal endoplazmik retikulumda lektin bağlanmasının çok yoğun olduğunu ve bunun da adı geçen bölgede yoğun laktoz kalıntısının bulunmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir (17).

Gabius ve ark. (32) yaptıkları çalışmada normal bezler ile adenom ve karsinoma bitkilerden elde edilen lektinlerin bağlanmasını karşılaştırdıklarında, normal bezlerle adenoma arasında bağlanma açısından bir fark bulamazlarken karsinoma bağlanmanın arttığını, artışın hücre yüzeyindeki reseptörlerde görülen artışlardan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

3.2.Ökse Otu (*Viscum album* Loranthaceae) Hakkında Genel Bilgiler

Tıbbi bitkilerden biri olan *Viscum* cinsi, loranthaceae familyasına aittir. Tropikal ve ılıman bölgelerde, ormanlık alanlarda çeşitli ağaçların ve çalılıkların üzerinde yarı parazit olarak gelişen bu cins, yeryüzünde 68 tür ile temsil edilmektedir (19).

Ülkemizde *Viscum* cinsi, bir tür ve bu türe ait 3 alt türü bulunmaktadır ve *Viscum album*un meyvalarında bulunan "Vissin" isimli yapışkan madde çubuklar üzerine sürülmekte ve küçük kuşları yakalamak amacıyla ökse yapımında kullanılmaktadır. Bitkiye Türkçe olarak "Ökse otu" isminin verilmesi bu kullanım amacından kaynaklanmaktadır ve halk arasında "bırıç, çekem, fitri, gelimkara, gevele, gökçe, gövelek, purç, purçak" gibi isimlerle anılmaktadır (19).

Halk arasında yaygın olarak kullanılması araştırmacıların ilgisini çekmiş ve yürütülen çalışmalarla *Viscum album*'un lektin, viskotoksin, fenilpropan, lignan, flavanil, alkaloid, polihalozit gibi birçok etken madde içerdiği ve bu etken maddelerden alkaloidlerin, lektinlerin ve viskotoksinlerin antitümöral etkiye sahip oldukları bulunmuştur (23,42,47,52,82).

Jordan ve Wagner (47)'de *Viscum album* ekstratının farmakolojik etkisinin, içerdiği polisakkaritlerden kaynaklandığını ve tümör tedavisinde kullanılan *Viscum album* polisakkarit içeriğinin aşağıdaki şekilde bulunduğunu bildirmektedirler.

| | Gövde | Yaprak |
|-------------|-------|--------|
| Doğal şeker | %7.9 | %5.1 |
| Arabinoz | %5.3 | %3.7 |
| Galaktoz | %1.3 | %0.6 |
| Glukoz | eser | eser |
| Mannoz | %0.3 | %0.1 |
| Ksiloz | %0.4 | %0.1 |
| Ramnoz | %0.6 | %0.6 |
| Üronik asit | %50.0 | %62.0 |
| Protein | %15.0 | %9.0 |

3.3.Viscum album Aglutinin (VAA) Hakkında Genel Bilgiler

Ökse otundan elde edilen lektin değişik kaynaklarda *Viscum album* Aglutinin (VAA), β -galaktozit-spesifik lektin ve mistlotea lektin-I (ML-I) olarak farklı biçimlerde isimlendirilmiştir (23,31).

Bird (10) yaptığı çalışmada VAA'nın eritrositleri çöktürdüğünü belirtmiş ve Ökse otunda bulunan lektini lektin-I (ML-I), lektin-II (ML-II) ve lektin-III (ML-III) olarak ayırmış ve molekül ağırlıklarını sırasıyla 115000, 60000, 50000 dalton olarak bulmuştur.

VAA, A ve B olmak üzere iki zincirlerinden oluşmaktadır. Bu iki zincir birbirlerine disülfid bağları ile bağlanmıştır. B zinciri lektinin haptoforik kısmını oluşturmakta ve gerçek lektin olarak adlandırılmaktadır. VAA'nın glikokonjugatlara bağlanan kısmı budur (23,25,31). A zinciri ise toksoforik kısmı oluşturmaktadır (23,24,31). VAA'nın immunmodilatör dozundan daha yüksek dozlarının çeşitli hücre populasyonlarında tanımlanamayan toksik bir etkiye neden olduğu bildirilmiş ve bu toksik etkinin VAA'nın β -galaktozit ve α -2,6-sialillaktozid ile sonlanan glikokonjugatlara olan spesifiliğinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (30,56).

Luther ve ark. (63) ML-I'in A ve B zincirinin amino asit kompozisyonlarının farklı olduğunu, fakat her iki zincirin de glikoprotein yapısında olduğunu bildirmişler ve A zincirinin %10.1, B zincirinin ise %11.0 şeker içerdiğini saptamışlardır.

3.3.1.VAA'nın Antitümöral Etkisi

VAA, immunmodülatör etkisi olan bir maddedir (42,43). Bu etkisini immunsistem hücrelerinin sayısını ve aktivitesini artırarak göstermektedir (38,54,64). Bununun yanı sıra tümörlü hücre yüzeyine bağlanmasının tümör hücrelerini immun sistem hücrelerince daha kolay tanımasında rol oynayacağı düşünülmektedir (30,34,70). VAA bu özelliklerinden dolayı kanser tedavisinde kullanım olanağı bulmuş (65,73,77,89) ve VAA içeren birçok ticari preparat değişik ülkelerde kullanılmaktadır (Iscador, Helikxor, Plenosal, Vysorel) (38).

Kunze ve ark. (56) sidik kesesi tümörü oluşturmak için N-metil-nitrozamini, Vistar albino sıçanlara 7.5 mg/kg. dozda intravesikal olarak vermişlerdir. Bu sıçanlara tedavi amacıyla, VAA'yı immunmodülatör dozu 1ng/kg. 6 ay boyunca s.c. olarak uygulamışlar ve sıçanlarda tümör gelişiminin %29.3'ten, %27.9'a düştüğünü bildirmişlerdir.

Beuth ve ark. (6) 10 adet meme kanserli hastaya VAA'yı 1ng/kg. dozda s.c. olarak 4 hafta boyunca haftada iki defa verdiklerini bildirmişlerdir. Bunun sonucu olarak, hastalarda lenfosit sayısında, doğal öldürücü hücre sitotoksitesinde, interlökin-2 sekresyonunda ve reseptör sayısında bir artış saptadıklarını açıklamışlardır.

Franz ve ark. (24) yaptıkları çalışmada 10^7 adet Ehrlich ascites hücresinin inokülasyonundan sonra 0.5 ml.'sinde 10, 100, 300 ng. VAA içeren çözeltinin verilmesiyle tümör gelişiminin belirgin bir şekilde düştüğünü ve hayvanların yaşam sürelerinin uzadığını bildirmişlerdir. VAA'nın 300-500 ng/fare dozunda uygulandığı grupta ise hayvanların 1-5 gün süreyle hasta gibi göründüklerini ve yaşayabilen hayvanlarda ise 20 gün boyunca tümör gelişiminin görülmediğini bildirmişlerdir.

VAA'nın 600 ng/fare üzerindeki uygulamalarında ise farelerin tümünün 1-3 gün arasında öldüğünü rapor etmişlerdir.

Beuth ve ark. (7) BALB/c farelerde sarcoma L-1 ve RAW 117 deneysel kanser modellerini oluşturmuşlar ve bu farelere VAA' yı immunmodülatör dozda s.c. olarak uyguladıklarında peritoneal makrofaj sayısında, doğal öldürücü hücre sitotoksitesinde, granüler lenfosit sayısında, granülositlerin fagositotik aktivitesinde, tümör nekrosiz faktör α 'da, interlökin-1 ve interlökin-6 salgısında artış olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmanın sonucunda, timus ağırlığında anlamlı bir artışa rastlanırken, dalak ağırlığında önemli bir artışın olmadığını belirtmişlerdir.

Beuth ve ark. (8) BALB/c farelerine, ML-I'in immunmodülatör dozları olan 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 ng/kg.'ı üç gün ardarda vermişlerdir. ML-I, 1 ng/kg. uygulandığında timosit sayısında ve aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı değişimler oluşturduğunu ve yine periferik kan lenfosit ile monosit sayılarında da anlamlı artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bununla beraber 0.5 ng/kg. dozda yapılan uygulamada anlamlı bir değişim bulunmuşlarken, 2.5 ve 5.0 ng/kg. dozlardaki uygulamalarda, ilk uygulanan dozla karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim bulunmadığını belirtmişlerdir. Bunun sonucu olarak 0.5-1.0 ng/kg. dozun immunmodülatör etki için en uygun doz olduğunu öne sürmüşlerdir.

Kuttan ve ark. (58) yaptıkları çalışmada 6 gruptan oluşan Swiss albino farelere, 1×10^6 adet Ehrlich ascites hücresini i.p. olarak vermişlerdir. Tümör gelişen hayvanlara VAA'nın ticari preparatı olan Iscador'u, hücre uygulamasından 24 saat sonra 83 mg/kg. tek doz i.p. olarak uyguladıklarında tedavi grubunun yaşam süresinin tümör grubuna göre %75.0 uzadığını saptamışlardır.

Leroi (60) İsviçrede Lukas kliniğine başvuran rektum, kolon ve rektum, kolon kanserini beraber içeren hastalar üzerinde Iscador'un etkisini araştırmıştır. Kolon kanseri bulunan hastalara 17 ay boyunca Iscador vermiş ve bu hastaların yaşama oranının %48.0, Iscador ile tedavi edilmeyen hastaların yaşama oranının %12.0 olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada, rektum kanserli hastalarda Iscador tedavi

grubunun yaşama oranı %63.0, tedavi edilmeyen grubun yaşama oranı ise %35.0 olarak bulunmuştur. Keza, rektum ve kolon kanserinin beraber bulunduğu hastalarda Iscador ile tedavi edilen grubun yaşama oranının %54.0, tedavi edilmeyen grubun yaşama oranının ise %24.0 olarak bulunduğu belirtilmiştir.

Rentea ve ark. (79) Sprague-Dawley sıçanlarına, 16 hafta boyunca VAA'nın ticari preparatı olan Iscador 'u 2.5 mg/kg. dozda i.p. olarak uyguladıklarında timus ağırlığının kontrol grubuna göre %78.0 daha fazla arttığını bulduklarını rapor etmişlerdir.

Hajto ve Lanzerein (43) 20 adet meme kanserli hastaya Iscador'u bir defada 0.36 mg/kg. dozda intra venöz (i.v.) olarak uyguladıklarında, doğal öldürücü hücre sitotoksitesinde ve granüler lenfositlerin fagositotoksik aktivitesinde artış meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Hajto ve ark. (42) yaptıkları çalışmada 22 adet göğüs kanserli hastaya Iscador'u i.v. olarak uyguladıklarında granulositlerin fagositotik aktivitesinde, doğal öldürücü hücre sitotoksitesinde, interlökin-1 ve interkōkin-6 sekresyonunda artış olduğunu bildirmişlerdir.

Kuttan ve ark. (57) tarafından farelere kimyasal bir kanserojen olan 20-metilcolantren enjeksiyonu yanısıra 15 hafta boyunca haftada 2 kez 1ng/kg. doz Iscador vermiş ve bu dozun tüm hayvanlarda tümör oluşumunu engellerken etkin dozun altındaki 16.6×10^{-2} , 16.6×10^{-3} , 16.6×10^{-4} ng/kg.'lık dozların uygulanmasında hayvanların sırasıyla %35, %50.0, %83'ünde sarkom geliştiğini bildirmişlerdir.

Klett ve Anderer (54) VAA'nın ticari bir preparatı olan Heliksor'un periferik kan mononükleer hücrelerine 72 saat etkimesinden sonra doğal öldürücü hücre aktivitesinde bir artış meydana geldiğini bulmuşlardır.

Beuth ve ark. (9) VAA'yı BALB/c farelerine s.c. olarak 1ng/kg. dozda uygulamışlar ve mg. organ ağırlığı başına timosit miktarında anlamlı bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Türkmen ve ark. (94) yaptıkları çalışmada sıçanlara DMBA vererek tümör oluşturmuşlar ve bu sıçanlara 1ng/kg. dozda lektini s.c. olarak 16 hafta boyunca uygulayarak bu hayvanlarda serum sialik asit, total protein ve albümin düzeyleriyle timus ve dalak ağırlıklarını ölçtüklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar Lektin uygulaması yapılan kanserli grupla kontrol grupları karşılaştırıldığında serum total protein ve albümin düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı farklılıklar bulamamışlardır. Serum sialik asit düzeylerinde ise sağlıklı kontrol grubu ile kanserli kontrol grubu değerleri arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı farklılıklar bulmuşlardır. Yine sağlıklı kontrol grubu ile lektin verilen deneme grubu değerleri arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Timus ve dalak ağırlıkları değerlendirildiğinde deneme grubunun timus ağırlıklarının kendi içinde artış gösterdiği, dalak ağırlığı artışının ise deneme grubuna göre $p<0.01$ düzeyinde anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

3.4.Tümör Biyokimyası Hakkında Genel Bilgi

Tümör yada neoplasia kelime anlamı olarak "yeni gelişme", "yeni oluşum" anlamındadır (1,80). Bütün tümörlerin kökeninde yatan etkenin, normal doku gelişmesinde büyüme kontrol mekanizmalarına olan yanıtın kaybolması ve tümöral hücrelerin, normal hücre gelişmesini kontrol eden mekanizmalardan etkilenmeksizin çoğalmayı sürdürmeleri olduğu belirtilmiştir (1,80). Buna ek olarak tümörlerin buldukları konakta parazit gibi davrandıkları ve metabolik gereksinimleri için normal doku ve hücrelerden yararlandıkları, böylece hastalarda zayıflatıcı ve yıkıma uğraticı bir şekilde geliştikleri de rapor edilmiştir (80). Bir hücre, tümör hücresi haline dönüştüğünde, bu hücreden oluşan yeni hücrelerin davranış ve biçimlerinin sabit kalmadığı, aksine kötü huyluluğun daha da artması yönünde bir eğilim olduğu belirtilmiştir (1,71).

Tümörlerin özellikleri ve nitelikleri konusunda birçok bilgi saptanmış fakat insan ve hayvandaki neoplastik hastalıkların tamamının oluşum nedenlerini açıklayan belirgin bir kural hala ortaya konulamamıştır (1,80).

Günümüze kadar elde edilen bilgilere göre tümörlerin sebepleri iki ana bölümde toplanabilir (1,80).

a-Tümöre karşı eğilim yaratan faktörler: Bu faktörler arasında tür, ırk, cinsiyet, yaş, organ meyili v.b. sayılabilir.

b-Tümör oluşumunu artıran nedenler: Genel olarak doku anomalileri, fiziksel kronik iritasyon, radyoaktif maddelerin irradyasyonu, parazitler, kimyasal karsinojenler, hormonlar, kalıtım, virusler, diğer tümör nedenleri.

Murray ve ark. (71) tümör hücrelerinin biyokimyasal profilinin, normal hücrelerinkinden çok farklı olduğunu, enzimlerde ve diğer biyokimyasal parametrelerde birçok değişiklikler olduğunu, bu değişikliklerin tümörlerdeki büyümenin hızlı olmasına ve kromozomal kararsızlığa bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı yazarlar hızlı büyümeden dolayı tümör hücrelerinde anabolik olayların maksimum (DNA ve RNA sentezi), katabolik olayların ise minimum düzeylerde gerçekleştiğini (Pirimidinlerin katabolizması), diğer bir deyişle, tümör metabolizmasının tamamen büyüme üzerinde yoğunlaştığını, tümör hücrelerinde, büyüme faktörleri veya hormon düzeyinin değişimi gibi, farklılaşmış gen düzenlenişinden kaynaklanan biyokimyasal değişikliklerinde görüldüğünü rapor etmişlerdir.

Robins ve Kumar (80)'ın bildirdiğine göre tümör hücrelerinin çekirdeğindeki DNA çeşitli yöntemler ile parçalamışlar ve bu parçaların ayrı ayrı hücrelere implante edilmesi sonucunda tümörleşmeden sorumlu kısmın DNA'nın 3500 nükleotidlik bir parçasının, bir başka deyişle tek bir genin olduğu saptanmış ve bu gene "onkojen tümör geni" adı verilmiştir.

Ersoy ve Bayşu (20) normal bir hücre tümör hücresi haline gelince, fizyolojik hücre antijenlerini kaybettiğini, tümöre özel antijenlerin hücre zarına bağlandığını ve hücre zarındaki antijenlerin immunolojik farklılaşmasının temelinde, zarın makromoleküler organizasyonun ve kimyasal yapısının değişikliğinin yatığını bildirmişlerdir.

Murray ve ark. (71)'ca hızla büyüyen tümör hücrelerinde rastlanan biyokimyasal değişiklikleri aşağıdaki şekilde sıralamış,

- 1-Ribonükleotit redüktaz aktivitesinin artması.
- 2-RNA ve DNA sentezlerinin artması.
- 3-Pirimidin katabolizmasının azalması.
- 4-Fötal protein sentezinin artması (karsino embriyonik antijen).
- 5-Farklılaşmış biyokimyasal işlevlerin kaybı.
- 6-Bazı büyüme faktörü ve hormonların gereksiz sentezi.

ve hücre glikoproteinlerinin oligosakkarit zincirindeki değişikliklerin, metastazın meydana gelmesinde can alıcı bir rol oynayabileceğini ileri sürmüşler ve tümör hücrelerinin yüzeylerinde aşağıdaki değişimlerin saptandığı bildirilmiştir.

- 1-Geçirgenlik değişiklikleri.
- 2-Hücreye madde taşınmasındaki değişimler.
- 3-Lektinlerce çöketürülme yeteneğinin artırılması.
- 4-Bazı enzimlerin aktivitelerindeki değişimler.
- 5- Hücre üst yüzeyi elektiriksel yükünün değişimleri.
- 6-Yeni antijenlerin ortaya çıkması.
- 7-Bazı antijenlerin kaybı.
- 8-Glikoproteinlerin oligosakkarit zincirindeki değişiklikler.
- 9-Glikolipid bileşenlerine ait değişiklikler.

Ersoy ve Bayşu (20) tümör hücrelerinin, vücudun immunolojik savunmasından etkilenmediğini bu yüzden tümör hücrelerinin antijen olmayan yapılar tarafından (nöraminik asit içeren glikoproteinler gibi) işaretlenmesi gerektiğini, tümörlerin kimyasal tedavilerinin, normal hücre ile kanserli hücre metabolizmaları arasında sadece tümör hücresine özgü olan bir farkın bulunması ile gerçekleşebileceğini bildirmişlerdir.

3.4.1. Ehrlich Ascites Sıvı Tümörü Hakkında Genel Bilgiler

Ehrlich tümörü solid ve ascites olmak üzere iki formdan oluşmaktadır (53,99). Zeybek'in bildirdiğine göre (99) Bu tümör ilk defa 1907 yılında albino bir farenin meme bezinden çıkarılmış olan Ehrlich fare karsinomasından türetilmiştir. Bu tümör solid yapıdadır. 1932 yılında ise, Loeventhal ve Jahn tarafından ascites formu elde edilmiştir. Ascites formlar pasaj yoluyla devam ettirilebilmesinin yanı sıra, tümör hücrelerinin yapısı ve biyokimyasalarının incelenmesinde de avantajlar sağlamıştır (53,78,99). Ehrlich tümörünün transplante edilebilme oranı çok yüksektir ve hızlı büyüme özelliğindedir. Deney hayvanlarında %100 ölüme yol açar ve virülansı oldukça yüksektir (53,78,99). Zeybek (99) Ehrlich ascites tümöründe en iyi gelişme oranının, erkek farelerde ve 1.2×10^6 sayıda verildiğinde elde edildiğini bildirmektedir.

3.5.Enzimler Hakkında Genel Bilgiler

Biyokimyasal reaksiyonların olağan koşullarda hızla gerçekleşmelerine imkan veren ve canlı dokunun temel karakteristiğini oluşturan biyokatalistlere enzim adı verilir (67,69).

Hastalık durumlarında hastalığın teşhisi için enzim parametrelerinin incelenmesi son derece yararlıdır. Serum ve plazmadaki pekçok enzim değişimleri ve dolayısıyla aktiviteleri, bir dokunun hücreleri tahrip olduğunda, enzimlerin hücre dışına sızmaları artacağından yükselir. Enzimler ve izoenzimlerin çoğu belirli

dokularla ilgili olduğundan, serum ve plazma enzim aktivitelerinin düzeyi, hangi dokunun tahrip olduğunu belirler (20,67,68,69,91).

Enzimler farklı dokularda yer aldıkları gibi hücre içerisinde de farklı organellerde bulunurlar. Bu organeller hücrenin, doku ve organın görevi ile yakından ilişkilidirler (20,67,68,69,91).

Serum enzimlerini kökenleri ve işlevlerine göre üç grupta toplamak mümkündür; 1- Plazmaya özgü enzimler, 2- Salgılanmış enzimler, 3-Hücreyel enzimler (12,68,69,87).

Salgı ve hücre enzimlerinin plazmada bir fonksiyonları bulunmamasına karşın serumdaki aktivitelerinin yükselmesi, çoğunlukla bozulan hücre mebranı geçirgenliğinin değişimi sonucunda, hücre içerisinden kana geçmesiyle olmaktadır (63,65). Bu durum doku ve organlarda bir takım patolojik değişikliklerin meydana geldiğinin göstergesidir (12,67,68,69,87,91).

Serum enzim aktivitesinin artışı ile hastalığın şiddeti arasında bir ilişki vardır (67,68,69,87). Ayrıca hastalığın ortadan kalkmasıyla beraber hücreler normal fonksiyonlarına kavuşmakta ve serum enzim aktiviteleri de normale dönmektedir (20,68,69).

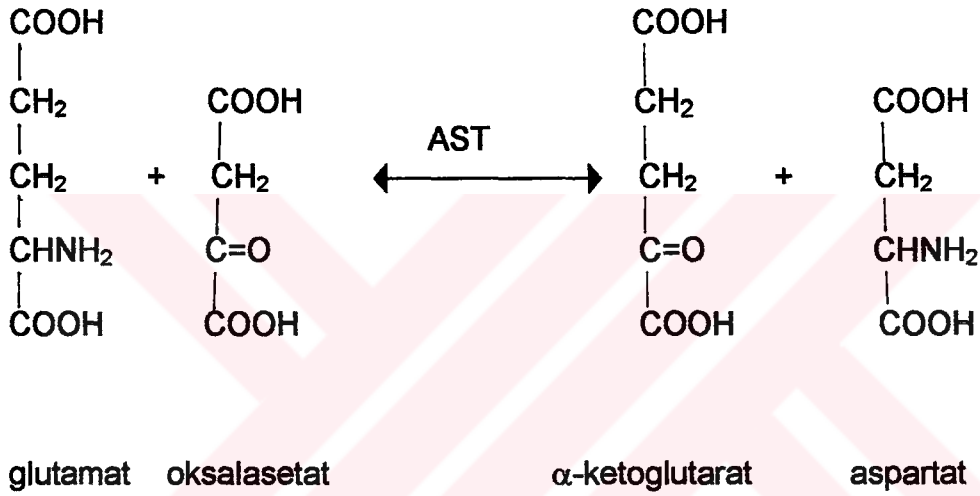
Tümörlerin teşhisinde enzimlerin kullanılmasına yönelik birçok çalışma yapılmış ve primer tümörün, enzimler üzerinde çok büyük etkiler göstermezken, doku zararıyla seyreden metastazik sızramaların serum enzim aktivitelerinde önemli artışlar meydana getirdiği bulunmuştur (12).

Serum enzim testlerinin anti tümöral tedavi için iyi bir indikatör olabileceği ve özellikle metastazik karaciğer neoplazilerinde AST, ALT, GGT, ALP aktivitelerinde bir artış meydana geldiği bildirilmiştir (12).

3.5.1. Aspartat Amino Transaminaz (AST)

Eski adı Glutamik Oksalasetik Transaminaz, sistemik adı Aspartat Amino Transaminaz'dır. Kodu: E.C.2.6.1.1'dir. Aspartat transaminaz, L-Aspartat 2-oksoglutarat amino transferaz ise diğer isimleridir (2,44,49,61,93).

Bu enzimin katalize ettiği reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.



AST'nin optimum pH'sı 7.4, kan serumundaki yarılanma ömrü yaklaşık 17 saat olarak bildirilmiştir (2,67).

AST'nin esas olarak iki tane izoenzimi vardır. Bunlardan anyonik olan ilki hücrenin sitoplazmasında yer alırken, katyonik olan ikinci enzim mitokondrisinde bulunur (12). Karaciğer dokusundaki AST aktivitesinin yaklaşık %40-60'ı mitokondrilerde bulunduğundan (68,69). AST mitokondriye kadar varan hücre dejenerasyonlarının belirleyicisidir (12,61,68,69).

AST hepatoselüler hasarın spesifik bir belirleyicisi değildir. Çünkü diğer dokularda da (özellikle kalp ve iskelet kaslarında) oldukça fazla miktarda bulunmaktadır. Bu dokularda meydana gelen hücre dejenerasyonlarında AST'nin

serumdaki konsantrasyonunda artışlar meydana gelebileceği bildirilmiştir (12,20,44,49,61,93).

Boyd (13) normal ratların kan ve çeşitli dokularında AST aktivitelerini; serumda 316 ± 32.8 IU/L, karaciğerde 171 ± 6.4 IU/g., böbrekte 169 IU/g. olarak saptamış ve karaciğer nekrozlu hayvanların serum AST aktivitesinin anlamlı bir şekilde arttığını bildirmiştir.

Lindena ve ark. (61) Fare karaciğerindeki AST aktivitesini, 207 ± 2.4 IU/g., sıçanlarda ise 196 ± 4.5 IU/g., böbreklerdeki AST aktivitelerini ise sıçanlarda 115 ± 2.0 IU/g. ve farelerde 107 ± 2.0 IU/g. olarak saptamışlardır.

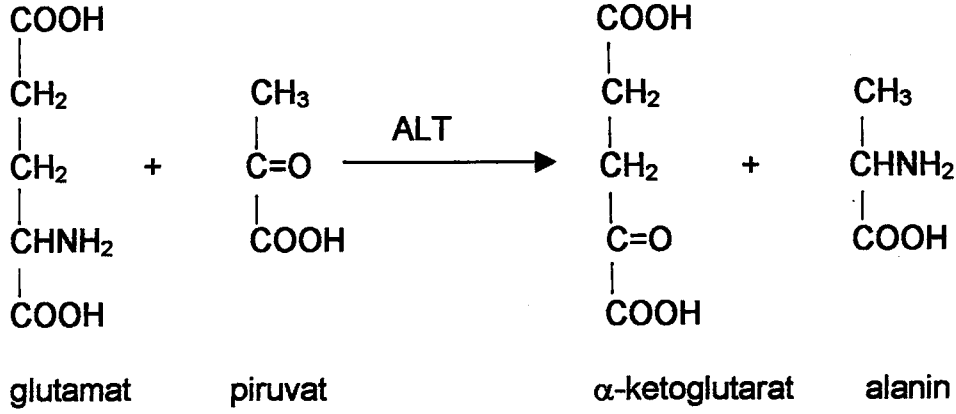
Engelhardt ve ark. (16) rubratoksin B verdikleri farelerde normal ve deneme grubundaki hayvanların serum AST aktivitelerini sırasıyla 52.1 ± 4.3 IU/L, 210.3 ± 32.3 IU/L olarak bulmuşlardır.

Zibari ve ark. (100) 1988-1995 yılları arasında hastaneye başvuran insanlarda primer ve metastazik karaciğer tümürlü hastalarda yaptıkları çalışmada serum AST aktivitesinin yükseldiğini rapor etmişlerdir. Chen ve ark. (15) 289 hepatoselüler karsinoma bulunan hastalarda yaptıkları çalışmada, Zibari ve ark. (100)'nın çalışma sonuçlarına paralellik arz eden neticeler bulduklarını açıklamışlardır.

3.5.2. Alanin Amino Transferaz (ALT)

Eski adı Glutamik Pirüvikasit Transaminaz, sistemik adı Alanin amino transferaz (ALT)'dir. Kodu ise EC. 2.6.1.2.'dir. Diğer isimleri piruvik transaminaz, Alanin transaminaz (AlaAT), L-alanin,2-oksoglutarat aminotransferazdır (2,12,44,49,61,93).

Bu enzimin katalize ettiği reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.



ALT'nin optimal pH'sı 7.5-8, serumdaki yarılanma zamanı ise 47 saat olarak bildirilmiştir (68). Karaciğere özgü olan ALT hücrenin sitoplazmasında bulunur ve serum ALT aktivitesindeki artış AST'ye göre hepatoselüler zararın çok daha iyi bir göstergesidir (12,49,61,68,69,93).

Serum ALT aktivitesindeki artışlar çok farklı etkenlere bağlı olabilir. Eğer belirgin derecede yüksek bir enzim artışı varsa; viral hepatit, toksik karaciğer nekrozu ile şoklar, hipoksi ile beraber olan dolaşım bozukluğu söz konusu olabilir. Orta derecedeki ALT artışları ise siroz, sarılık ve kas hastalıklarında görülebilebilir (12,20,68,69,91). ALT hepatoselüler hasarın iyi bir göstergesidir. Bu enzim böbreklerde önemli düzeylerde bulunur (12,20,44,68,69,93).

Henry (44) karaciğer hastalığı olan kişilerde serum ALT aktivitelerinin yükseldiğini, diğer durumlarda bu yükselmenin önemsiz olduğunu bildirmiştir.

Boyd (13) sıçanlardaki serum, karaciğer, böbrek ALT düzeylerini sırasıyla 17 IU/L., 24 IU/g., 16 IU/g. olduğunu yazmaktadır.

Lindena ve ark. (61) yaptıkları çalışmada sıçanlarda karaciğer ve böbrek ALT aktivitelerini sırasıyla 65.7 ± 1.3 IU/g., 18 ± 0.6 IU/g., farelerde ise karaciğer ve böbrek ALT aktivitelerini sırasıyla 94.3 ± 1.7 IU/g., 6.1 ± 0.1 IU/g. bulduklarını bildirmişlerdir.

Özcan ve Mengi (75) kontrol grubu ratlar ile 5g/kg/gün dozda %50'lik etanol verdiği deneme grubunda ALT değerlerinin sırasıyla serumda 31.233 ve 42.804 IU/L., karaciğerde 9.507 ve 14.532 IU/g., böbrekte ise 4.600 ve 5.636 IU/g. olduğunu önesürmüşlerdir.

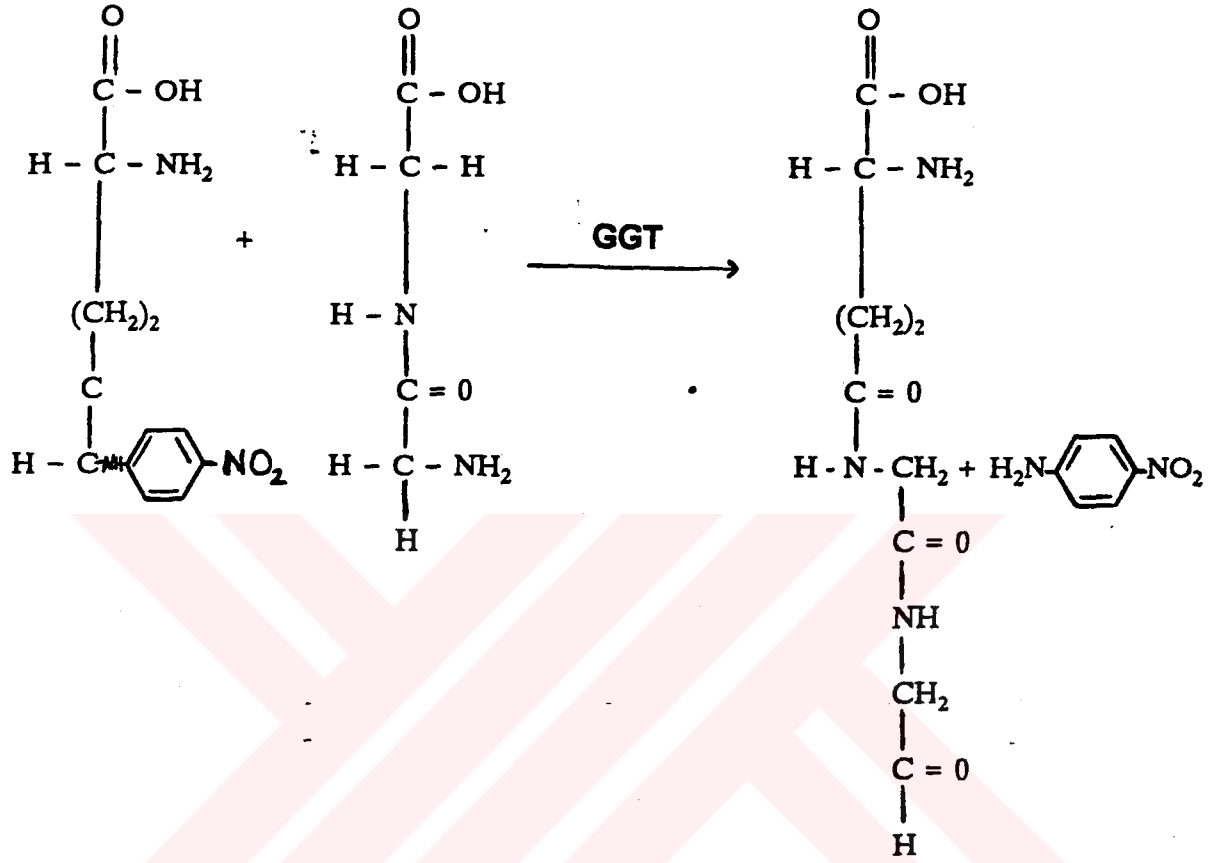
Engelhardt ve ark. (16) rubratoksin B verdikleri farelerde normal ve deneme grubundaki hayvanların serum ALT düzeylerini sırasıyla 17.9 ± 3.6 IU/L., 38.8 ± 7.2 IU/L., olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Zibari ve ark. (100) 1988-1995 yılları arasında hastaneye başvuran primer ve metastazik karaciğer tümörlü hastalarda yaptıkları çalışmada serum ALT aktivitesinin yükselmiş olduğunu bulduklarını rapor etmişlerdir. Chen ve ark. (15) 289 hepatoselüler karsinoma bulunan hastada yaptıkları çalışmada, bu çalışmayla paralelik arzeden sonuçlar elde ettiklerini açıklamışlardır.

3.5.3. Gamma Glutamil Transpeptidaz (GGT)

Pratikteki adı Gamma-Glutamil Transpeptidazdır. Kodu ise EC.2.3.2.2'dir. γ -glutamil peptid, amino-asit- γ -glutamik transferaz, γ -transferaz (GT) diğer isimleridir (2,12,44,66,67).

Bu enzimin katalize ettiği reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.



γ -glutamil-p-nitroanilid + glisil glisin $\xrightarrow{\text{GGT}}$ γ -Glutamil glisil glisin + P-nitro anilin

GGT, γ -glutamil peptiden, γ -glutamil grubunu kopararak başka bir akseptöre transferini katalize eder. Akseptörleri genellikle aspartik asit, prolin, hidroksi prolin ve uzun zincirli peptitler dışındaki tüm L-aminoasitlerdir. Ancak akseptör olarak en çok glisil glisini kullandığı bilinmektedir (2,12,66,67,86). GGT'nin fizyolojik işlevi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, aminoasit transportuna ve glutatyon ile diğer peptitlerin metabolizmasına katıldığı ve enzimin fizyolojik işlevi ile hücredeki yeri arasında sıkı bir ilişki olduğu belirtilmektedir (66,67). GGT aminoasit ve peptitlerin hücre membranından hücre içerisine γ -glutamil peptit şeklinde

taşınmasını sağlar (93). Ayrıca bu enzimin hücre savunmasında ve rejenerasyonunda fonksiyonu olabileceği bildirilmiştir (12,93).

GGT hücre mebranına bağlı bir enzimdir. Mikrozomal enzim indüksiyonuna cevapta GGT'nin doku aktivitesinin yükseldiği bildirilmiştir (66). GGT, organizmada pek çok dokuda bulunan, fakat oldukça farklı dağılım gösteren bir enzimdir. En sıklıkla bulunduğu organ böbreklerdeki renal tubullerdir(12,66,67,93). Bunun dışında serum, karaciğer, dalak, pankreas ve bağırsaklarda da önemli düzeylerde bulunur (66,68).

GGT düzeyinin belirlenmesi ,kolestatik hepatik hastalıklar için duyarlı ve spesifik bir testtir. Serum GGT'nin, kronik hepatoselüler ve karaciğer yıkımlanmasına neden olan hastalıklarda aktivitesinde bir artış meydana gelir (12). GGT düzeyleri safra kanalı hastalıklarının tüm formlarının ve hepatik tümörlerin belirlenmesinde diğer enzimlere göre daha iyi göstergesidir (12,93). Plazma GGT aktivitesi, primer hepatik neoplazmik hastalıklarda, sürekli olarak yüksek düzeyde bulunur (93).

GGT, endoplazmik retikulumda bulunan bir enzim olduğundan, aktivitesindeki artış tüm mikrozomal enzimlerin non- spesifik uyarımı sonucu gelişebilir (12).

Safra kanalına ilişkin tıkanmalarda plazma GGT aktivitesindeki artış, enzimin hepatik sentezinin artması yada tıkanmalara bağlı olarak safra enzim salımının bozulması sonucunda gelişir (12,93).

Boyd ve ark. (13) sıçanlarda serum, karaciğer ve böbrek GGT aktivitelerinin sırasıyla 0.60 IU/L, 0.13 IU/g., 189 IU/g. olduğunu bildirmişlerdir.

Özcan ve Mengi (75) sıçanlara 21 gün boyunca oral olarak 5g/kg/gün dozda %50'lik etanol verilen sıçanlarda, serum GGT aktivitesini 21. günün sonunda kontrol ve deney grublarında sırasıyla serumda 1.818 ve 2.989 IU/L, karaciğer dokusunda

0.081IU/g ile 0.146 IU/g, böbrekte ise 367.00 ve 368.56 IU/g. olarak saptadığını kaydetmişlerdir.

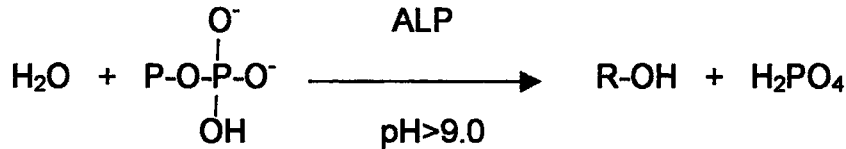
Mengi (67) sıçanlar ile yaptığı çalışmada Vaccineurin III enjeksiyondan 30 dakika, ACTH enjeksiyonundan ise 60 dakika sonra karaciğer GGT aktivitesinde %28 azalma saptadığını ileri sürmüştür. Aynı araştırmacı bu azalmanın enzimin -SH (sülfidril) grublarının oksitlenmesinden ileri geldiğini ifade etmiştir. Serotonin enjeksiyonundan 30 dakika sonra ise GGT'nin aktivitesinde %42 oranında artış izlenmiş ve bu yükselmenin enzimin -SH/-S-S orantısının değişmesinden kaynaklanabileceğini belirtmiştir.

Chen ve ark.(15) 289 hepatoselüler karsinoma bulunan hastada yaptıkları çalışmada serum GGT aktivitesinin yükseldiğini bildirmişlerdir.

3.5.4. Alkalen Fosfataz (ALP)

Sistemik adı ortofosforik mono ester fosfohidrolaz'dır. Pratikteki ismi alkalen fosfataz olup, kodu EC 3.1.3.1'dir. ALP alkali ortamdaki fosfat esterlerini hidrolize eder (12,21,61,69).

Bu enzimin katalize ettiği reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.



ALP özellikle böbrek ve kemiklerde önemli, karaciğer, beyin ve kaslarda ise daha düşük bir aktiviteye sahiptir. Serum ALP aktivitesi hepatobiliar hastalıklarda ve karaciğer hastalıklarında artış gösterir (12,87,93).

ALP'nin birçok izoenzimi vardır. Kemik hastalıklarında kemiklere, karaciğer hastalıklarında ise karaciğere özgü ALP izoenziminde artış meydana gelir. Ayrıca

böbreklere, bağırsaklara ve plasentaya özgü ALP izoenzimleri de vardır (12,49,72,93). ALP'nin plazma aktivitesindeki artış büyük ölçüde karaciğer ve kemiklerden kaynaklanan izoenzimlerden ileri gelir, çünkü Plasental, renal ve intestinal izoenzimlerin yarı ömürleri çok kısadır (3-6 dakika) ve total aktiviteye katkıları sınırlıdır (93). Serum ALP ve ALP izoenzim analizleri karaciğer, kemik ve endokrin hastalıkların teşhisinde kullanılan iyi parametrelerdir (12,72,93).

ALP'nin membran fosfolipid senteziyle ilgili olduğu ve ATP'nin defosforilasyonunu katalize ettiği düşünülmektedir (68,93).

ALP aktivitesindeki artışlar kolestazisin şiddetiyle orantılıdır ve tam tıkanmalarda köpeklerde 150, kedilerde 15 misli artışlar olabilir. Hepatik nekrozis ve yangıda da karaciğer ALP aktivitesinde artışlar meydana gelebilir (12,93). Neoplaziler ve endokrin hastalıklarda hepatik ALP aktivitesi artar (87,93). Karsinomlar gibi primer neoplazilerde ALP düzeylerinde farklı düzeylerde artışlar görülür ancak bu artışlar normal üst sınırların 10 katı kadardır. Sekonder neoplazilerdeyse artışlar orta derecededir.

Lindena ve ark.(61) yaptığı çalışmada sıçanlarda karaciğer ALP aktivitesini 11 ± 0.30 IU/g., böbrek ALP aktivitesini 153 ± 2.10 IU/g., farelerde ise karaciğer 38 ± 0.15 IU/g. ve böbrekre ise 296 ± 10 IU/g. bulduklarını bildirmişlerdir.

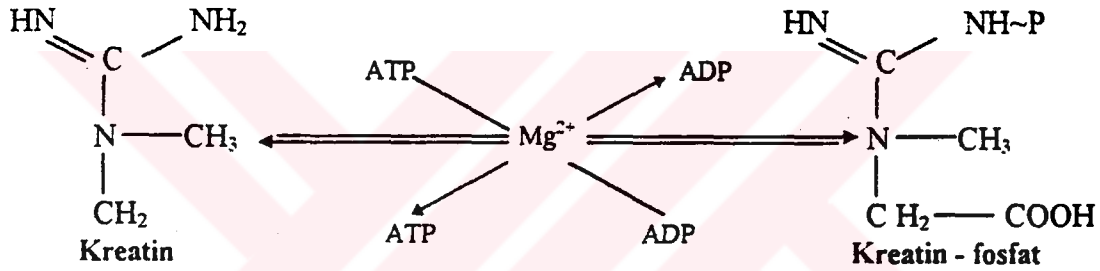
Boyd (13) sıçanlarda karaciğer ALP aktivitesinin 11.7 IU/g., böbrekte ise 300 IU/g. olduğunu saptamıştır.

Chen ve ark. (15) hepatoselüler karsinomada, Walther ve ark. (95) ise metastazik renal karsinomada serum ALP düzeylerinin arttığını saptamışlardır. Fahim ve ark. (22) solid Erlich ascites karsinoma bulunan farelerde aloin'in antitumoral etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada tedavi edilmeyen grubun karaciğere özgü serum ALP izoenzim aktivitesinin %82.3 oranında arttığını gözlemişlerdir, Nakayama ve ark. (72) ise osteosarkomda kemiklere özgü ALP izoenzimlerinin serum düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir.

3.5.5.Kreatin Kinaz (CK)

Pratikteki ismi kreatin kinaz (CK) veya kreatin fosfokinaz (CPK) olup kodu EC 2.7.3.2.'dir (2,49,87,93). Klinik kullanımda CK izoenzimleri en organ spesifik serum enzimleridir (12,93). Bunlar kreatin fosfat oluşturmak için, ATP tarafından kreatinin dönüşümlü fosforilizasyonunu katalize ederler. CK'nın optimal pH'sı kreatininin, kreatin fosfata dönüşümü için 8.3-9.0 ve ters reaksiyon için 6.9-7.2'dir (76).

Bu enzimin katalize ettiği reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.



CK'nın iki alt ünitesinin (M ve B) oluşturduğu üç izoenzimi vardır (12,46,93).

Kas hastalıklarından sonra serum CK aktivitesi hızla artar ve CK aktivitesindeki artışlar, kas hücre mebranını bozan herhangi bir etken sonucu oluşur. intra muskuler enjeksiyon, sürekli yatma, ağır ekzersiz, elektirik şoku, hipotermi veya ezilme gibi travmalardan köken alır (12,49,93). Artışlar spontan hastalıklarda (miyositis) daha yüksektir (93) ve ayrıca toksik ve metabolik kas hastalıklarında, karsinom gibi hastalıklarda CK düzeylerinin yükselmesi gözlenir (12,49,93).

Lindena ve ark (61) yaptıkları çalışmada sıçanlarda CK aktivitesinin karaciğerde 11.7 ± 0.27 IU/g. böbreklerde 28.7 ± 1.1 IU/g. , farelerde ise karaciğerde 6.6 ± 0.13 IU/g., böbreklerde 11.7 ± 0.57 IU/g. olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Boyd (13) sıçanlarda serum, karaciğer ve böbrek aktivitelerini sırasıyla 183 IU/L., 10 IU/g., 31 IU/g. olduğunu rapor etmiştir.

4.GEREÇ VE YÖNTEM

4.1.GEREÇ

Bu çalışmada materyal olarak 8-10 haftalık, ortalama 17-25 g., 80 adet BALB/C grubu erkek fare kullanılmıştır. Hayvanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünden (DETAE) temin edilen 30 dişi, 10 erkek farenin harem usulu çiftleştirilerek üretilmesi sonucunda elde edilmiştir.

Fareler Lektin deneme (LD), Kanserli kontrol (KK), Lektin kontrol (LK), Normal kontrol (NK) olmak üzere 20'şerli 4 gruba ayrılarak 15 günlük uygulama - araştırma programına alınmışlardır. Her grubu oluşturan 20 hayvan ortak kafeslerde ticari rat yemi ile ad libitum olarak beslenmiş, oda ısısının $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ortam neminin ise $\% 40 \pm 10$ olmasına özen gösterilmiştir.

LD (Lektin deneme); Bu gruptaki farelere donör bir farenin abdominal bölgesinden alınan Ehrlich ascites sıvı tümörü 0.1ml ($1,2 \times 10^6$) i. p. olarak uygulanmış ve bu uygulama günü 0. gün olarak kabul edilmiştir.Yine aynı gruptaki hayvanlara 1. ve 2. günlerde 1 ml. (100 ng/fare) VAA i. p. olarak uygulanmıştır.

KK (Kanserli kontrol); Bu gruptaki hayvanlara 0. gün Ehrlich ascites sıvı tümörü 0.1ml ($1,2 \times 10^6$) i. p. olarak uygulanmış, 1. ve 2.günlerde 1ml serum fizyolojik verilmiştir.

LK (Lektin kontrol); Bu gruptaki hayvanlara 0. gün 0.1ml serum fizyolojik, 1. ve 2. günlerde ise 1 ml. (100 ng/fare) VAA uygulanmıştır.

NK (Normal kontrol); Bu gruptaki hayvanlara ise 0., 1. ve 2. günlerde 0.1ml serum fizyolojik verilmiştir.

Hayvanların canlı ağırlık artışı kan alım günlerinde ölçülerek kaydedilmiştir.

4.1.1.Örneklerin Toplanması

VAA verilisinin son günü olan 2. günde ve bunu takiben 7. ve 15. günlerde gözden, kapillar tüp aracılığı ile serum tüplerine kan örnekleri alınmıştır. Bu numuneler, oda ısısında 1 saat süreyle bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiştir. Serumlar kapaklı plastik ependorf tüplerine alınarak -20°C derin dondurucuya yerleştirilmiştir. Her kan alımının ertesi günü örnekler otoanalizörde çalışılmıştır.

2. ve 7. günlerde her gruptan 5 adet hayvan, 15. gün ise her gruptan 10 adet hayvan eter anestezisi altında uyutularak, otopsiye alınmıştır. Otopside sıvı tümör miktarı (ml) ölçülmüştür. Karaciğer ve böbrek dokuları alınarak yaş ağırlıkları saptandıktan sonra 1g. doku örneğinin 2 ml 0,25M. sakkaroz çözeltisi ile karıştırılması baz alınarak doku örnekleri hazırlanmış ve homojenizatörde parçalanmıştır. Homojenatlar önce 2500- 3000 devirde 10 dakika, daha sonra 5000 devirde 15 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar kapaklı tüplere alınarak, -20°C'lik derin dondurucuya yerleştirilmişlerdir (75). Daha sonra doku örnekleri otoanalizatörde toplu olarak çalışılmıştır.

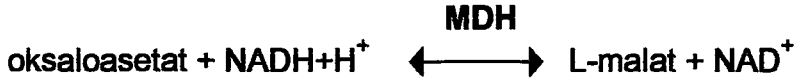
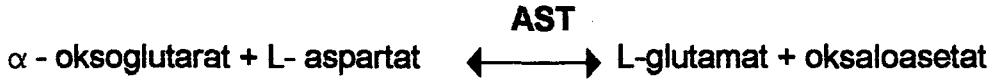
Serum, karaciğer ve böbrek doku örneklerinde AST, ALT, GGT, CK, ALP enzim aktivite tayinleri Biobak firmasından temin edilen bio-clinica marka ticari kitler kullanılarak Ciba-corning Express Plus marka otoanalizörde yapılmıştır.

4.2.YÖNTEM

4.2.1.Serum ve Doku AST Tayini

Serum ve doku AST aktivite tayinleri bio-clinica isimli hazır setlerdeki yöntem kullanılarak, Ciba-corning Express Plus otoanalizörde 340-365nm'lerde gerçekleştirilmişlerdir (2).

Prensip: AST enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalize eder.



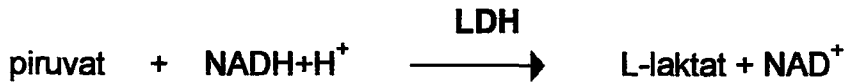
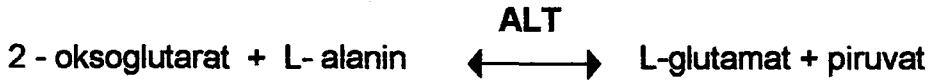
Ayıraç: Çalışma çözeltisi aşağıdaki maddelerin bir karışımıdır.

| | |
|-------------------------|--------------------|
| Fosfat tomponu | 80 mmol/L. pH 7.4. |
| L-aspartat | 200 mmol/L. |
| MDH | 0.6 U/ml. |
| LDH | 1.2 U/L. |
| NADH | 0.18 mmol/L. |
| α - oksoglutarat | 12 mmol/L. |

4.2.2.Serum ve Doku ALT Tayini

Serum ve doku ALT aktivite tayinleri Bio-clinica isimli hazır setlerdeki yöntem kullanılarak, Ciba-corning Express Plus otoanalizörde 340-365nm'lerde gerçekleştirilmişlerdir (2).

Prensip: ALT enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalize eder.



Ayıraç: Çalışma çözeltisi aşağıdaki maddelerin bir karışımıdır.

R₁: Enzim ayıracı

| | |
|----------|--------------------|
| Tris | 100 mmol/L. pH 7.5 |
| L-alanin | 500 mmol/L. |
| LDH | > 1200 U/L. |

R₂: Substrat

| | |
|----------------|--------------|
| 2-oksoglutarat | 15 mmol/L. |
| NADH | 0.18 mmol/L. |

4.2.3.Serum ve Doku GGT Aktivitesi Tayini

Serum ve GGT Aktivite tayinleri Bio-clinica isimli hazır setlerdeki yöntem kullanılarak, Ciba-corning Express plus otoanalizörde 405nm'de gerçekleştirilmiştir (2).

Prensip: GGT enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalize eder.



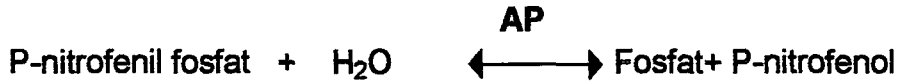
Ayıraç: Çalışma çözeltisi aşağıdaki maddelerin bir karışımıdır.

| | |
|---------------------------------------|-------------|
| Tris buffer (pH 8.25) | 120 mmol/L. |
| Glisilglisin | 120 mmol/L. |
| L-γ-glutamil-3-karboksi-4-nitroanilin | 4 mmol/L. |

4.2.4.Serum ve Doku ALP Tayini

Serum ve doku ALP aktivite tayinleri Biobak firmasının Bio-clinica isimli hazır setlerdeki yöntem kullanılarak, Ciba-corning Express Plus otoanalizörde 400-420nm'lerde gerçekleştirilmiştir (2).

Prensip: ALP enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalize eder.



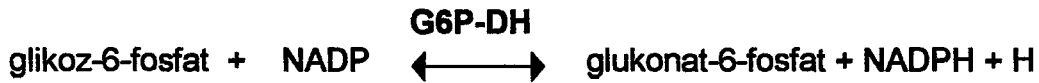
Ayır a: Çalışma  zeltisi aşağıdaki maddelerin bir karışımıdır.

| | | |
|----------------------|--------------|--------|
| Dietanolamin tamponu | 1.0 mmol/L. | pH 9.8 |
| MgCl ₂ | 0.5 mmol/L. | |
| P-nitrofenil fosfat | 10.0 mmol/L. | |

4.2.5.Serum ve Doku CK Tayini

Serum ve doku CK aktivite tayinleri Bio-clinica isimli hazır setlerdeki yöntem kullanılarak, Ciba-coming Express Plus otoanalizörde 405nm'de gerçekleştirilmişlerdir (2).

Prensip: CK enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalize eder.



Ayır a: Çalışma  zeltisi aşağıdaki maddelerin bir karışımıdır.

| | |
|--------------------------|-------------|
| İmidazol buffer (pH 6.7) | 0.1 mol/L. |
| Glukoz | 20 mmol/L. |
| Mg-asetat | 10 mmol/L. |
| EDTA | 2 mmol/L. |
| ADP | 2.0 mmol/L. |

| | |
|-----------------------|-------------|
| AMP | 5.0 mmol/L. |
| Diadenozinpentafosfat | 10 umol/L. |
| NADP | 2.0 mmol/L. |
| HK | 2.5 U/ml. |
| N-asetilsistin | 20 mmol/L. |
| G6P-DH | 1.5 U/L. |
| Kreatin fosfat | 30 mmol/L. |

4.2.6.Doku Total Protein Miktarı Tayini

Dokularda total protein tayinleri Bio-clinica isimli hazır setlerdeki yöntem kullanılarak, Ciba-coming Express Plus otoanalizörde 546nm'de gerçekleştirilmişlerdir (2).

Prensip: Bakır iyonları, alkali ortamda, proteinlerin peptit bağları ile reaksiyona girerek mor renkli bir kompleks oluşturur.

Ayıraç: Çalışma çözeltisi aşağıdaki maddelerin bir karışımıdır.

| | |
|--------------------------|-------------|
| Bakır sülfat | 18 mmol/L. |
| Potasyum iyodür | 30 mmol/L. |
| Potasyum sodyum tartarat | 32 mmol/L. |
| Sodyum hidroksit | 200 mmol/L. |

4.2.7.Dokularda Enzim Spesifik Aktivitelerinin Hesaplanması

Dokularda enzim spesifik aktiviteleri, enzim aktivitelerinin total proteine bölünmesi ile hesaplanmıştır (61).

4.2.8.Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

Elde edilen verilerin istatistikî analizleri, Snedecor ve Cochran (84)'ün bildirdiği şekilde gruplar arasında t-testi ile yapılmıştır.

4.2.9.VAA 'nın Hazırlanması

VAA'nın saflaştırılması ve kalite kontrolü Ludwig-Maximilians Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Enstitüsünde yapılmış ve VAA buradan temin edilmiştir. VAA , rat albümin (sigma Chemical Co., Munich, Germany, ml'de 50 µg) içeren 20 mM steril PBS.'de 1ml'sinde 100 ng olacak şekilde çözülerek hazırlanmıştır (38).

4.2.10.Histopatolojik Preparatların Hazırlanması

Kanserli kontrol ve lektin kontrol grubundaki hayvanlardan otopsi sırasında abdominal bölgelerinden alınan sıvının frotileri hazırlanmış ve bunlar May Grünwald – Giemsa boyası ile boyanmıştır.

Patolojik incelemeler için, ayrılan doku parçaları tespit amacıyla %10'luk formol salin solusyonuna konmuştur. Sonra bu organ parçaları, bilinen işlemlerden geçirilerek parafin bloklara alınmış ve bu bloklardan 5-7 mikron kalınlığında kesitler alınarak, hemotoksilen eozin ile boyanıp, ışık mikroskopunda incelenmişlerdir.

5.BULGULAR

Bu çalışmada elde edilen bulgular farelerde, serum, karaciğer ve böbrekte AST, ALT, GGT, ALP ve CK enzim aktiviteleri, canlı ağırlık değişimler, Ehrlich Ascites sıvı tümörü miktarı ve histopatolojik bulgular olmak üzere dört bölümde verilmiştir.

5.1.Farelerde Enzim Aktivite Düzeyleri

t-testinde Lektin deneme grubu ile Kanserli kontrol, Lektin kontrol ve Normal kontrol grupları arasında kıyaslama yapılmıştır.

LD= Lektin deneme

KK= Kanserli kontrol

LK= Lektin kontrol

NK= Normal kontrol

5.1.1.Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek AST Aktiviteleri

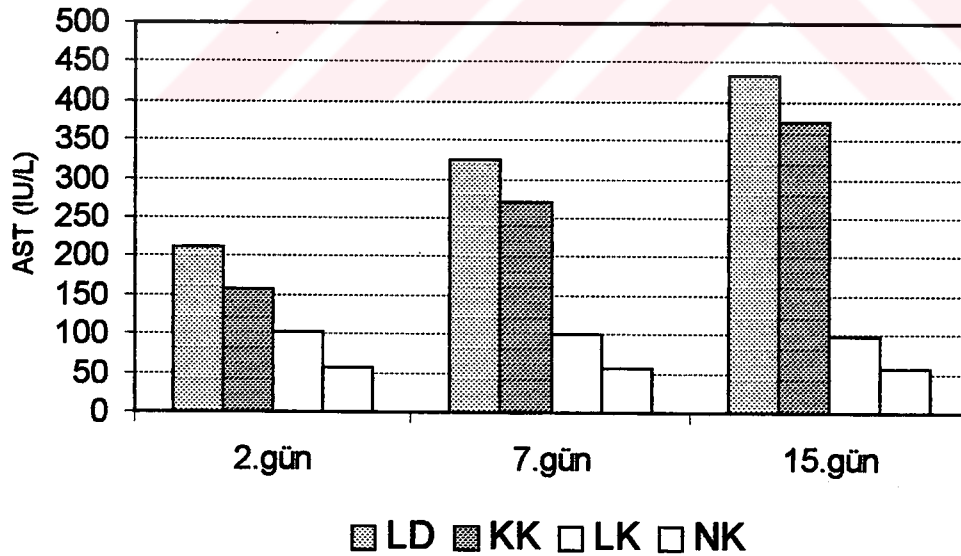
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde serumdaki AST aktiviteleri Tablo-1 ve Grafik-1' de gösterilmiştir.

Tablo-1 Farelerde Serum AST Aktiviteleri (IU/L)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|--------------|-----------|----------|-----------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 210.25±6.74 | | 20 | 158.10±3.64*** | | 20 | 103.60±5.44*** | | 20 | 55.80±3.75*** | | 20 |
| 7. gün | 325.73±8.34 | | 15 | 269.46±10.90*** | | 15 | 100.40±5.85*** | | 15 | 57.60±3.02*** | | 15 |
| 15. gün | 433.70±16.31 | | 10 | 373.10±14.56*** | | 10 | 98.70±3.67*** | | 10 | 56.30±3.52*** | | 10 |

***p<0.001

2., 7. ve 15. günlerde kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki AST aktivitesi artışları p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-1 Farelerde Serum AST Aktiviteleri (IU/L)

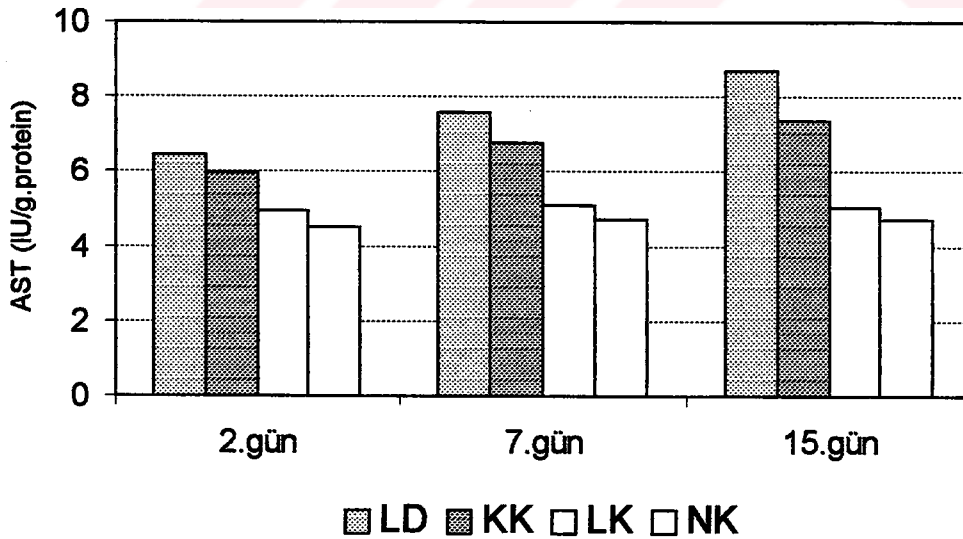
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde karaciğerdeki AST aktiviteleri Tablo-2 ve Grafik-2' de gösterilmiştir

Tablo-2 Farelerde Karaciğer AST Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-----------|----|----|--------------|----|----|--------------|----|----|--------------|----|----|
| | x | Sx | n | x | Sx | n | x | Sx | n | x | Sx | n |
| 2. gün | 6.44±0.45 | | 5 | 5.95±0.29** | | 5 | 4.95±0.41*** | | 5 | 4.49±0.21*** | | 5 |
| 7. gün | 7.58±0.73 | | 5 | 6.78±0.26** | | 5 | 5.09±0.31*** | | 5 | 4.73±0.13*** | | 5 |
| 15. gün | 8.71±0.70 | | 10 | 7.37±0.50*** | | 10 | 5.05±0.15*** | | 10 | 4.74±0.26*** | | 10 |

***p<0.001 **p<0.01

2., 7. ve 15. günlerde lektin kontrol ve normal kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki AST aktivitesinin artışı p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunamazken, 2. ve 7. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışı p<0.01 düzeyinde, 15. günde ise, lektin deneme grubundaki artışı p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-2 Farelerde Karaciğer AST Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

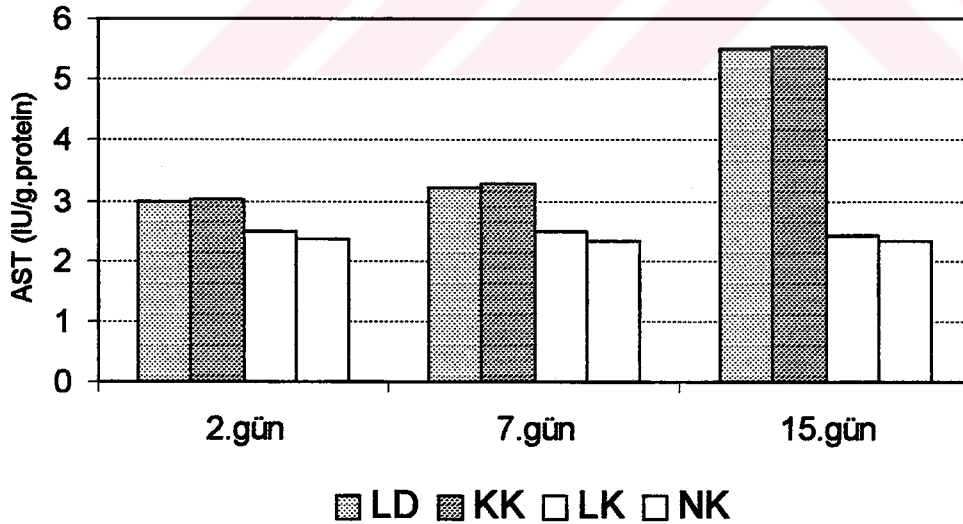
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde böbrekdeki AST aktiviteleri Tablo-3 ve Grafik-3' de gösterilmiştir.

Tablo-3 Farelerde Böbrek AST Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 3.00±0.20 | | 5 | 3.01±0.14 | | 5 | 2.48±0.19*** | | 5 | 2.36 ±0.13 *** | | 5 |
| 7. gün | 3.22±0.11 | | 5 | 3.29±0.22 | | 5 | 2.49±0.31*** | | 5 | 2.32±0.10*** | | 5 |
| 15. gün | 5.51±0.41 | | 10 | 5.53±0.32 | | 10 | 2.42±0.15*** | | 10 | 2.32±0.21*** | | 10 |

***p<0.001

2., 7. ve 15. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki AST enzim aktivitesindeki artış ve azalışlar istatistiki olarak anlamlı bulunurken, lektin kontrol ve normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışlar p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-3 Farelerde Böbrek AST Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

5.1.2.Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek ALT Aktiviteleri

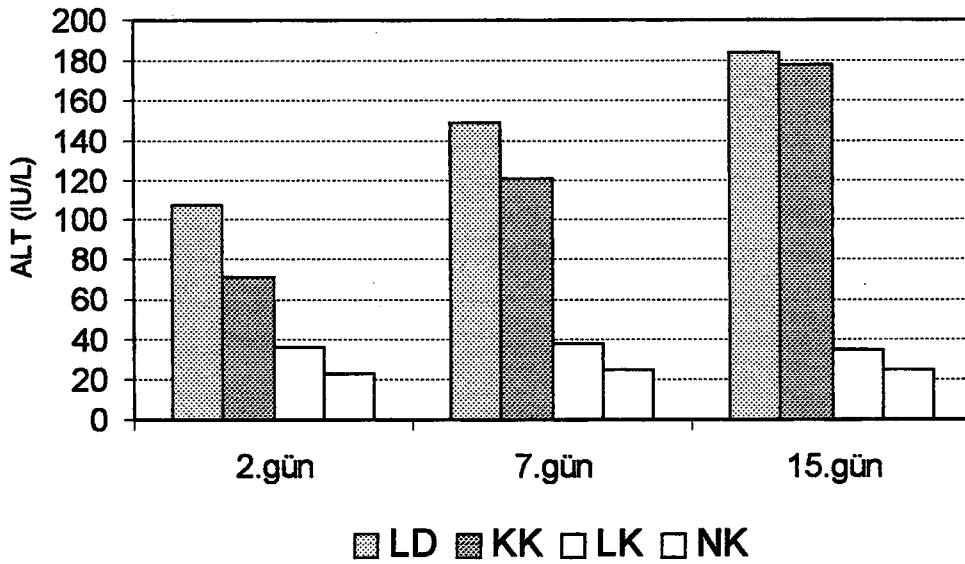
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde serumdaki ALT aktiviteleri Tablo-4 ve Grafik-4' te gösterilmiştir.

Tablo-4 Farelerde Serum ALT Aktiviteleri (IU/L)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|----------|-----------|----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 107.30 | ±4.55 | 20 | 71.15 | ±8.08*** | 20 | 36.30 | ±4.24*** | 20 | 23.40 | ±2.64*** | 20 |
| 7. gün | 148.53 | ±5.66 | 15 | 121.00 | ±4.08*** | 15 | 38.66 | ±3.33*** | 15 | 25.06 | ±2.89*** | 15 |
| 15. gün | 184.20 | ±8.62 | 10 | 177.90 | ±4.97* | 10 | 34.80 | ±3.67*** | 10 | 24.80 | ±3.32*** | 10 |

***p<0.001 *p<0.05

2. ve 7. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki ALT aktivitesinin artışı p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunurken , 15. günde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artış p<0.05 düzeyinde, yine aynı gün için diğer iki gruba göre lektin deneme grubundaki artış ise p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-4 Farelerde Serum ALT Aktiviteleri (IU/L)

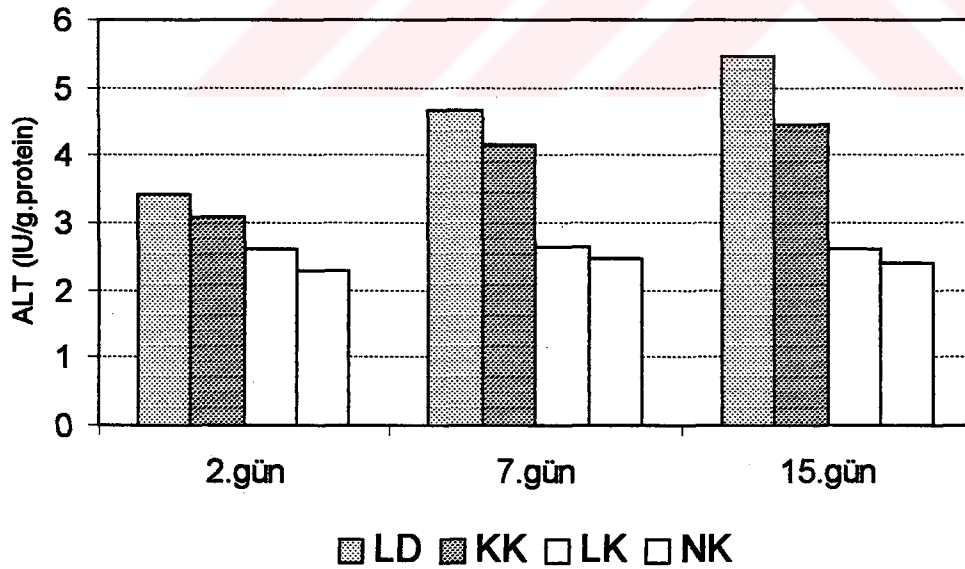
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde karaciğerdeki ALT aktiviteleri Tablo-5 ve Grafik-5' te gösterilmiştir.

Tablo-5 Farelerde Karaciğer ALT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|----------------|-----------|----|----|--------------|----|----|--------------|----|----|--------------|----|----|
| | x | Sx | n | x | Sx | n | x | Sx | n | x | Sx | n |
| 2. gün | 3.42±0.29 | | 5 | 3.10±0.18** | | 5 | 2.60±0.10*** | | 5 | 2.28±0.21*** | | 5 |
| 7. gün | 4.67±0.28 | | 5 | 4.15±0.23*** | | 5 | 2.64±0.16*** | | 5 | 2.47±0.14*** | | 5 |
| 15. gün | 5.48±0.54 | | 10 | 4.45±0.28*** | | 10 | 2.62±0.10*** | | 10 | 2.42±0.13*** | | 10 |

***p<0.001 **p<0.01

2., 7. ve 15. günlerde lektin kontrol ve normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki ALT aktivitesinin artışı p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunurken, 2. günde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artış p<0.01 düzeyinde anlamlı, 7. ve 15. günde ise lektin deneme grubundaki artış p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-5 Farelerde Karaciğer ALT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

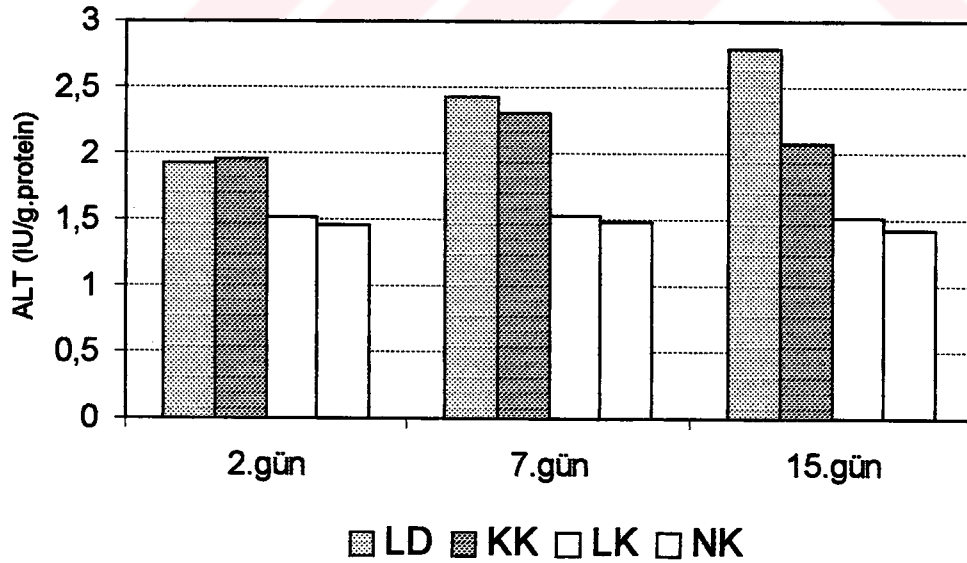
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde böbrekdeki ALT aktiviteleri Tablo-6 ve Grafik-6' da gösterilmiştir.

Tablo-6 Farelerde Böbrek ALT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|----------------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 1.93±0.13 | | 5 | 1.95±0.09 | | 5 | 1.51±0.20 *** | | 5 | 1.46±0.17 *** | | 5 |
| 7. gün | 2.42±0.17 | | 5 | 2.31±0.13 | | 5 | 1.53 ±0.10 *** | | 5 | 1.48 ±0.05 *** | | 5 |
| 15. gün | 2.79±0.24 | | 10 | 2.07±0.16 | | 10 | 1.52 ±0.06 *** | | 10 | 1.42 ±0.16 *** | | 10 |

***p<0.001

2., 7. ve 15. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki ALT aktivitesindeki artış ve azalışlar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamışken. Lektin kontrol ve normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışlar ise p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-6 Farelerde Böbrek ALT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

5.1.3.Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek GGT Aktiviteleri

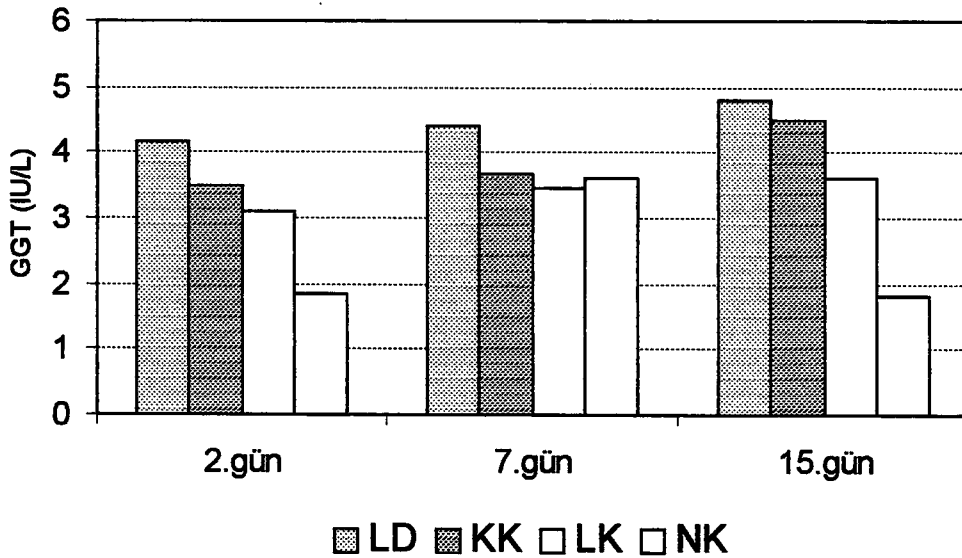
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde serumdaki GGT aktiviteleri Tablo-7 ve Grafik-7' de gösterilmiştir.

Tablo-7 Farelerde Serum GGT Aktiviteleri (IU/L)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-----------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 4.15±0.36 | | 20 | 3.50±0.51*** | | 20 | 3.10±0.78*** | | 20 | 1.85±0.74*** | | 20 |
| 7. gün | 4.40±0.50 | | 15 | 3.66±0.48*** | | 15 | 3.46±1.12*** | | 15 | 1.83±0.45*** | | 15 |
| 15. gün | 4.80±0.42 | | 10 | 4.50±0.52 | | 10 | 3.60±0.69*** | | 10 | 1.80±0.63*** | | 10 |

*** p< 0.001

2. ve 7. günlerde kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki GGT aktivitesinin artışı p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunurken, 15. günde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artış istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır. Aynı gün için lektin deneme grubundaki artış, diğer iki gruba göre p< 0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-7 Farelerde Serum GGT Aktiviteleri (IU/L)

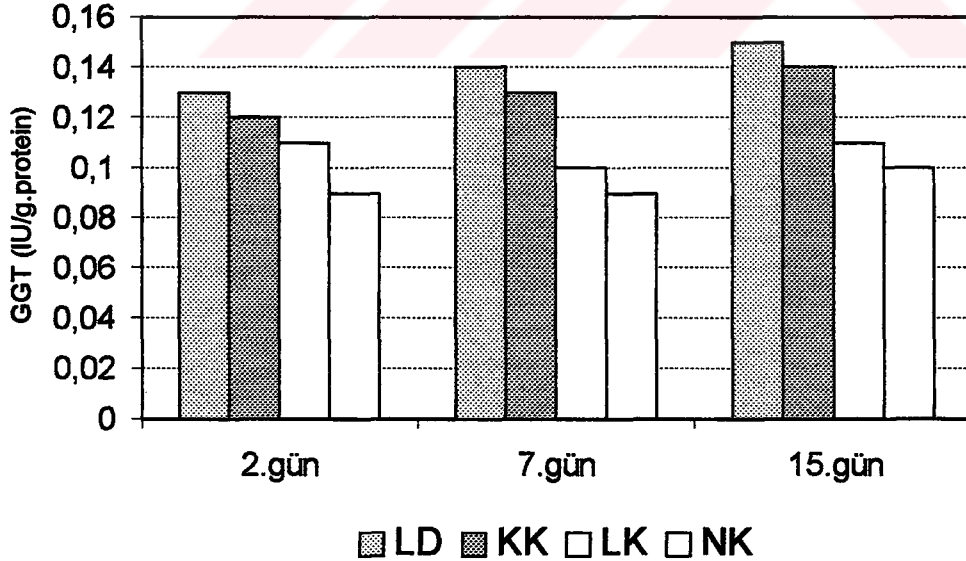
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde karaciğerdeki GGT aktiviteleri Tablo-8 ve Grafik-8' de gösterilmiştir.

Tablo-8 Farelerde Karaciğer GGT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 0.13±0.01 | | 5 | 0.12±0.01 | | 5 | 0.11±0.01* | | 5 | 0.09±0.01*** | | 5 |
| 7. gün | 0.14±0.02 | | 5 | 0.13±0.03 | | 5 | 0.10±0.01** | | 5 | 0.09±0.01*** | | 5 |
| 15. gün | 0.15±0.02 | | 10 | 0.14±0.01 | | 10 | 0.11±0.01*** | | 10 | 0.10±0.02*** | | 10 |

***p<0.001 **p<0.01 *p<0.05

2., 7. ve 15. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışlar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır. 2. gün lektin kontrol grubuna göre, lektin deneme grubundaki artış p<0.05 düzeyinde anlamlı bulunurken, 7. gündeki artış p<0.01 düzeyinde bulunmuştur. 15. gündeki artış ise p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur. 2., 7. ve 15. günlerde normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışlar istatistiki açıdan p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-8 Farelerde Karaciğer GGT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

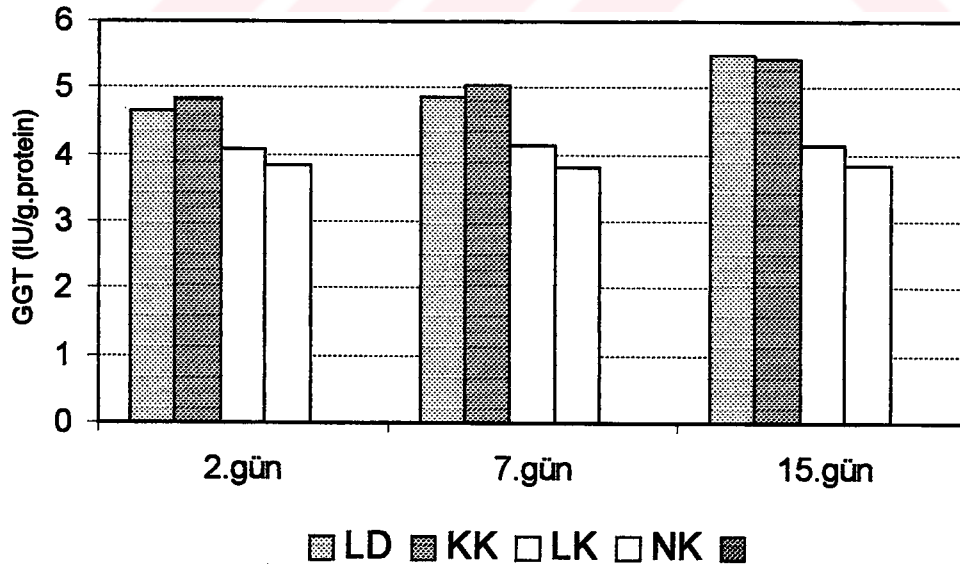
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde Böbrekdeki GGT aktiviteleri Tablo-9 ve Grafik-9' da gösterilmiştir.

Tablo-9 Farelerde Böbrek GGT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 4.65±0.20 | | 5 | 4.82±0.21 | | 5 | 4.07±0.37** | | 5 | 3.85±0.28 *** | | 5 |
| 7. gün | 4.87±0.25 | | 5 | 5.04±0.38 | | 5 | 4.14 ±0.46 ** | | 5 | 3.82±0.14 *** | | 5 |
| 15. gün | 5.49±0.43 | | 10 | 5.42±0.40 | | 10 | 4.15±0.21 *** | | 10 | 3.83±0.35 *** | | 10 |

***p<0.001 **p<0.01

2., 7. ve 15. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki GGT aktivitesindeki artış ve azalışlar istatistiki olarak anlamlı değildir. Lektin kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki GGT artışları 2. ve 7. günlerde p<0.01 düzeyinde , 15. gündeki artış p<0.001 düzeyinde, 2., 7., ve 15. günlerde normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki GGT artışları ise p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-9 Farelerde Böbrek GGT Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

5.1.4.Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek ALP Aktiviteleri

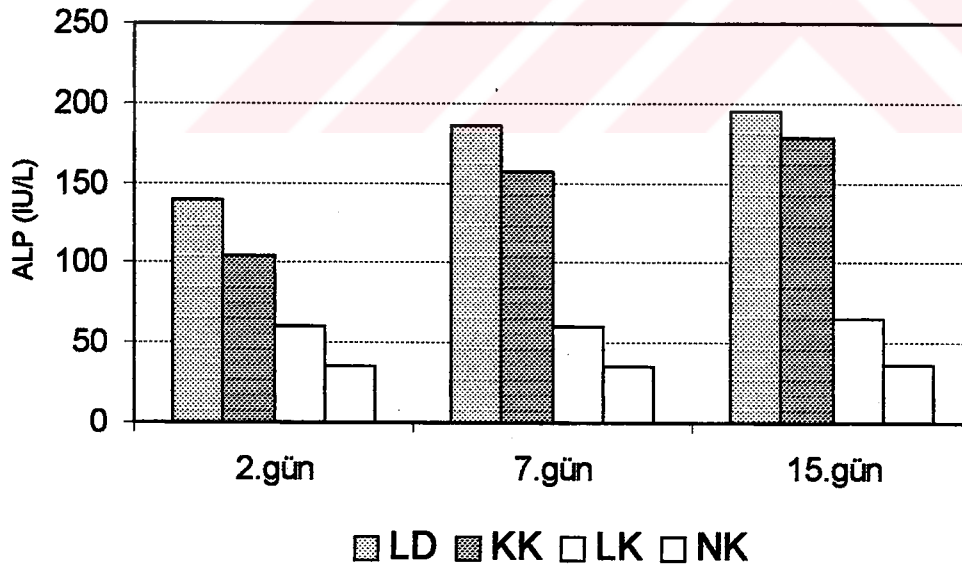
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde serumdaki ALP aktiviteleri Tablo-10 ve Grafik-10' da gösterilmiştir.

Tablo-10 Farelerde Serum ALP Aktiviteleri (IU/L)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 139.35±4.89 | | 20 | 104.55±4.93*** | | 20 | 60.55±4.32*** | | 20 | 35.10±2.88*** | | 20 |
| 7. gün | 185.60±6.56 | | 15 | 156.46±6.31*** | | 15 | 60.40±4.27*** | | 15 | 35.73±2.52*** | | 15 |
| 15. gün | 195.07±9.24 | | 10 | 178.40±6.76*** | | 10 | 65.10±4.28*** | | 10 | 36.10±2.51*** | | 10 |

***p<0.001

2., 7. ve 15. günlerde kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki ALP aktivitesi artışları p<0.001 düzeyinde anlamlı olduğu saptanmıştır.



Grafik-10 Farelerde Serum ALP Aktiviteleri (IU/L)

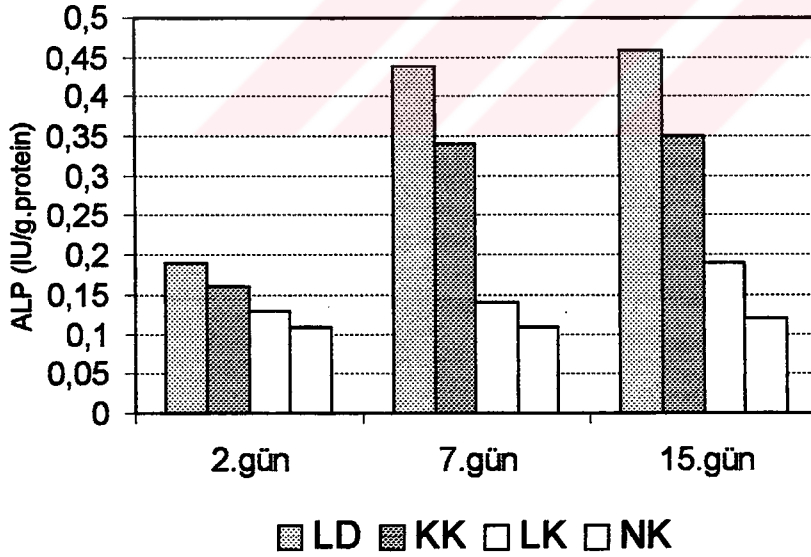
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde karaciğerdeki ALP aktiviteleri Tablo-11 ve Grafik-11' de gösterilmiştir.

Tablo-11 Farelerde Karaciğer ALP Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-----------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 0.19±0.01 | | 5 | 0.16±0.01*** | | 5 | 0.13±0.02*** | | 5 | 0.11±0.02*** | | 5 |
| 7. gün | 0.44±0.23 | | 5 | 0.34±0.05*** | | 5 | 0.14±0.02*** | | 5 | 0.11±0.02*** | | 5 |
| 15. gün | 0.46±0.06 | | 10 | 0.35±0.05*** | | 10 | 0.19±0.02*** | | 10 | 0.12±0.02*** | | 10 |

***p<0.001

2., 7. ve 15. günlerde kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki ALP aktivitesi artışları p<0.001 düzeyinde anlamlı olduğu görülmüştür.



Grafik-11 Farelerde Karaciğer ALP Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

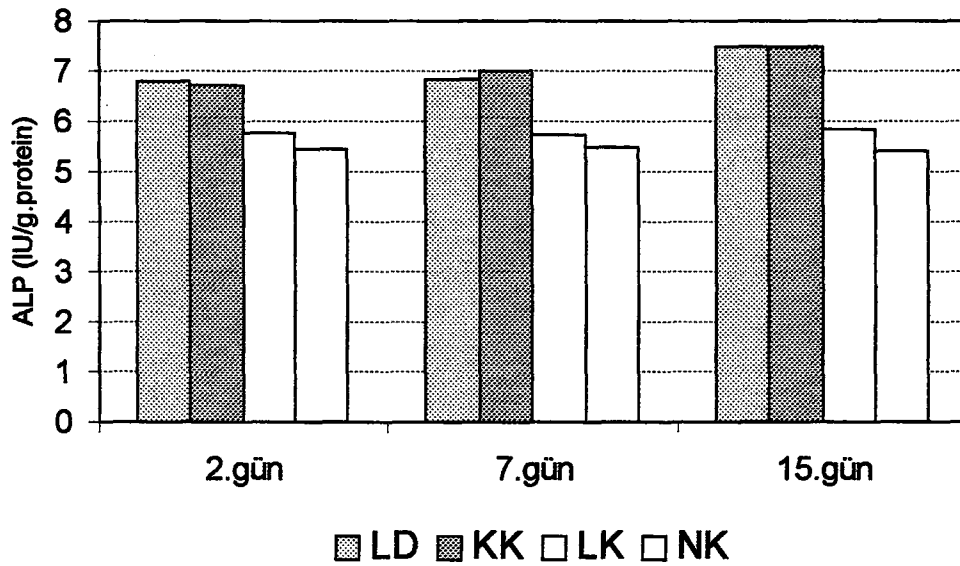
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde böbrekteki ALP aktiviteleri Tablo-12 ve Grafik-12' de gösterilmiştir.

Tablo-12 Farelerde Böbrek ALP Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 6.80 ±0.49 | | 5 | 6.72±0.34 | | 5 | 5.76±0.47 *** | | 5 | 5.44 ±0.32 *** | | 5 |
| 7. gün | 6.83±0.40 | | 5 | 7.02±0.46 | | 5 | 5.72±0.66 *** | | 5 | 5.48±0.37 *** | | 5 |
| 15. gün | 7.49±0.66 | | 10 | 7.50±0.54 | | 10 | 5.85±0.30 *** | | 10 | 5.42±0.43 *** | | 10 |

***p<0.001

2., 7. ve 15. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki ALP aktivitesindeki artış ve azalışlar istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık göstermezken , 2., 7. ve 15. günlerde lektin kontrol ve normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışların p<0.001 düzeyinde anlamlı olduğu gözlenmiştir.



Grafik-12 Farelerde Böbrek ALP Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

5.1.5.Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek CK Aktiviteleri

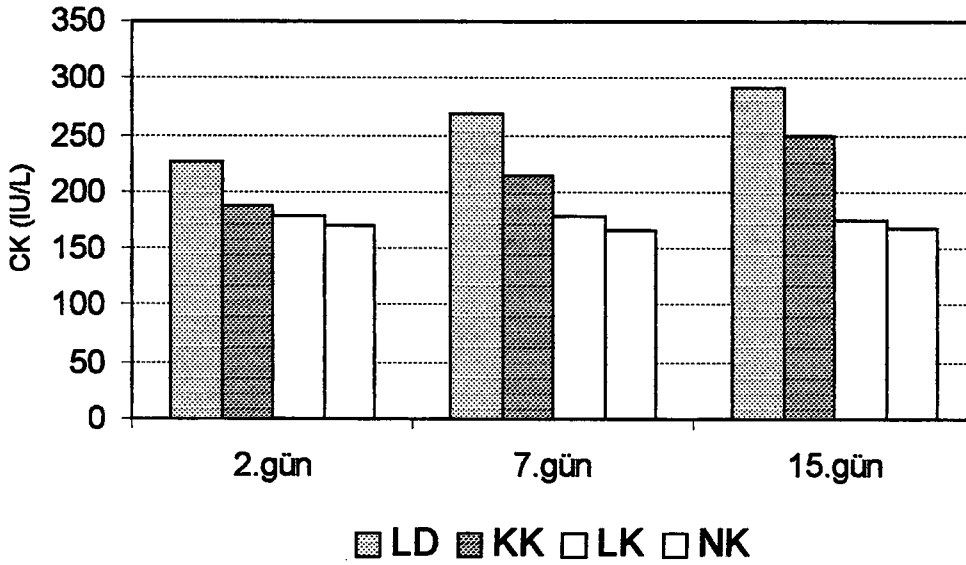
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde serumdaki CK aktiviteleri Tablo-13 ve Grafik-13' te gösterilmiştir.

Tablo-13 Farelerde Serum CK Aktiviteleri (IU/L)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|--------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 227.00±7.42 | | 20 | 187.15±5.40*** | | 20 | 178.55±9.53*** | | 20 | 170.50±8.33*** | | 20 |
| 7. gün | 268.80±10.92 | | 15 | 214.60±6.40*** | | 15 | 178.20±6.65*** | | 15 | 166.46±7.00*** | | 15 |
| 15. gün | 291.80±8.20 | | 10 | 248.80±6.35*** | | 10 | 174.40±5.60*** | | 10 | 168.50±3.83*** | | 10 |

***p<0.001

2., 7. ve 15. günlerde kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki CK aktivitesi artışlarının p<0.001 düzeyinde anlamlı olduğu hesaplanmıştır .



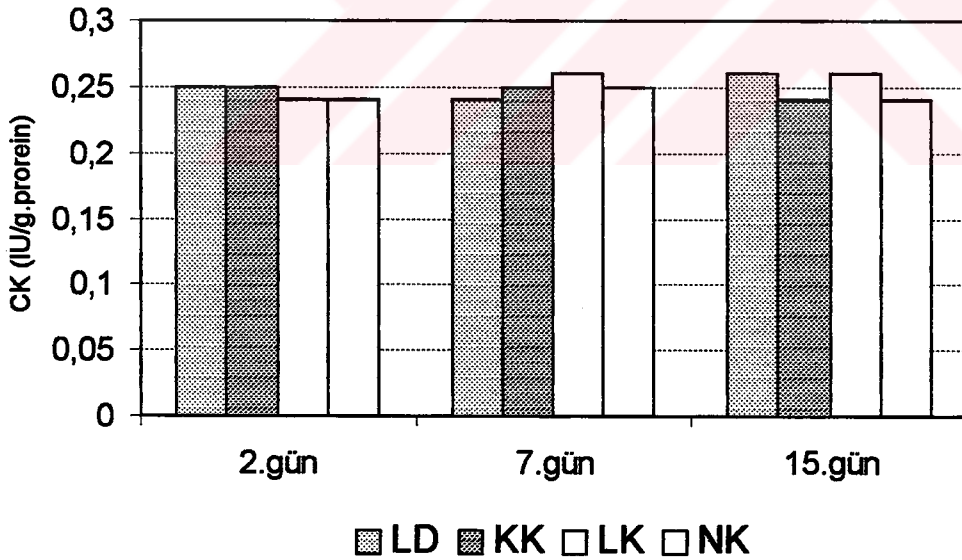
Grafik-13 Farelerde Serum CK Aktiviteleri (IU/L)

Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde karaciğerdeki CK aktiviteleri Tablo-14 ve Grafik-14' de gösterilmiştir.

Tablo-14 Farelerde Karaciğer CK Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 0.25±0.04 | | 5 | 0.25±0.04 | | 5 | 0.24±0.02 | | 5 | 0.24±0.03 | | 5 |
| 7. gün | 0.24±0.03 | | 5 | 0.25±0.03 | | 5 | 0.26±0.05 | | 5 | 0.25±0.04 | | 5 |
| 15. gün | 0.26±0.05 | | 10 | 0.24±0.04 | | 10 | 0.26±0.03 | | 10 | 0.24±0.02 | | 10 |

2., 7. ve 15. günlerde kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki CK aktivitesi artışları istatistiki açıdan anlamlı değildir.



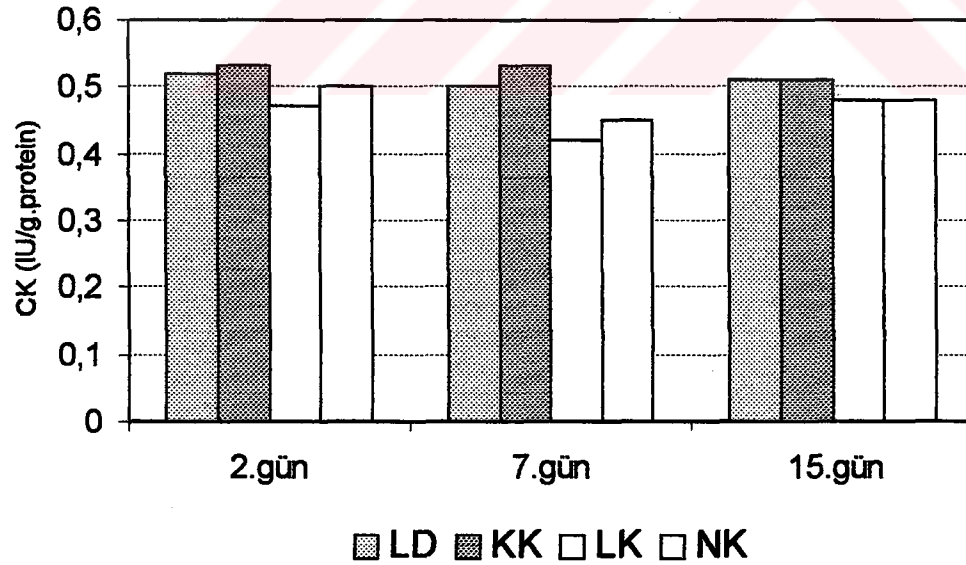
Grafik-14 Farelerde Karaciğer CK Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde böbrekteki CK aktiviteleri Tablo-15 ve Grafik-15' te gösterilmiştir.

Tablo-15 Farelerde Böbrek Spesifik CK Aktiviteleri (IU/g.protein)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|----------------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|------------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 0.52±0.03 | | 5 | 0.53±0.09 | | 5 | 0.47±0.04 | | 5 | 0.50±0.09 | | 5 |
| 7. gün | 0.50±0.03 | | 5 | 0.53±0.06 | | 5 | 0.42 ±0.09 | | 5 | 0.45±0.06 | | 5 |
| 15. gün | 0.51±0.06 | | 10 | 0.51±0.07 | | 10 | 0.48±0.07 | | 10 | 0.48±0.09 | | 10 |

2., 7. ve 15. günlerde kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki CK aktivitesi değişimlerini anlamlı bulunamamıştır.



Grafik-15 Farelerde Böbrek CK Spesifik Aktiviteleri (IU/g.protein)

5.2.Farelerde Canlı Ağırlık Değişimleri (g.)

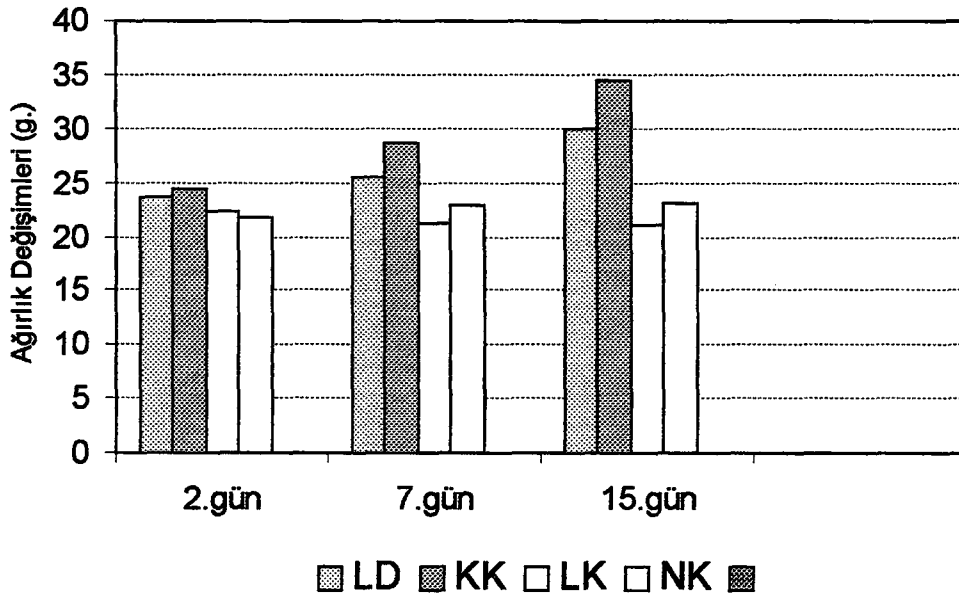
Deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerinde canlı ağırlık değişimleri Tablo-16 ve Grafik-16' da gösterilmiştir.

Tablo-16 Farelerde Canlı Ağırlık Değişimleri (g.)

| | LD | | | KK | | | LK | | | NK | | |
|---------|------------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|-----------------|-----------|----------|----------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 23.60±3.29 | | 20 | 24.40±3.43 | | 20 | 22.30±2.86 | | 20 | 21.70±3.70 | | 20 |
| 7. gün | 25.53±4.91 | | 15 | 28.60±4.79 * | | 15 | 21.13 ±3.33 *** | | 15 | 22.93±3.67 * | | 15 |
| 15. gün | 29.90±4.90 | | 10 | 34.50±3.68 ** | | 10 | 21.00±2.94*** | | 10 | 23.00±2.94 *** | | 10 |

***p<0.001 **p<0.01 *p<0.05

2.gün lektin deneme grubuna göre kanserli kontrol grubundaki canlı ağırlık artışı istatistiki olarak anlamlı bulunamamışken, 7. günde canlı ağırlık artışı p<0.05 düzeyinde, yine aynı gruplar için 15. gündeki canlı ağırlık artışı ise p<0.01 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.2.gün lektin kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki canlı ağırlık artışı istatistiki olarak anlamlı bulunamamışken, 7. ve 15. günlerde lektin deneme grubundaki canlı ağırlık artışları p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur. 2.gün lektin deneme grubuna göre normal kontrol grubundaki canlı ağırlık artışı istatistiki olarak anlamlı bulunamamışken, 7. günde canlı ağırlık artışı p<0.05 düzeyinde , yine aynı gruplar için 15. gündeki canlı ağırlık artışı p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.



Grafik-16 Farelerde Canlı Ağırlık Değişimleri (g.)

5.3.Farelerde Ehrlich Ascites Sıvı Tümörü Miktarı

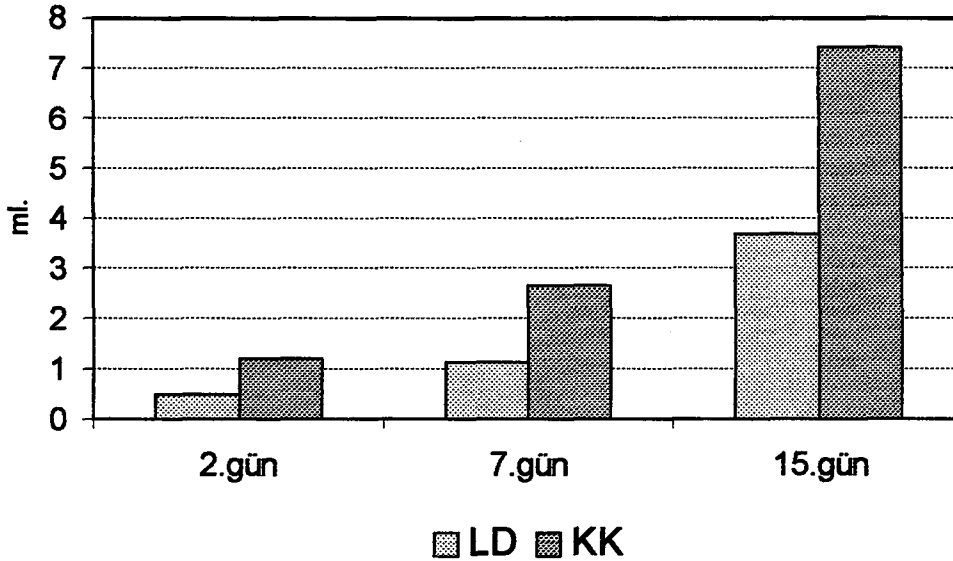
Lektin deneme ve kanserli kontrol grubundaki hayvanların 2., 7. ve 15. günlerindeki Ehrlich ascites sıvı tümörü miktarı Tablo-17 ve Grafik-17' de gösterilmiştir.

Tablo-17 Farelerde Ehrlich Ascites Sıvı Tümörü (ml.)

| | LD | | | KK | | |
|---------|-----------|-----------|----------|--------------|-----------|----------|
| | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> | <i>x</i> | <i>Sx</i> | <i>n</i> |
| 2. gün | 0.50±0.14 | | 5 | 1.20±0.18*** | | 5 |
| 7. gün | 1.14±0.21 | | 5 | 2.66±0.59*** | | 5 |
| 15. gün | 3.70±0.94 | | 10 | 7.40±2.98*** | | 10 |

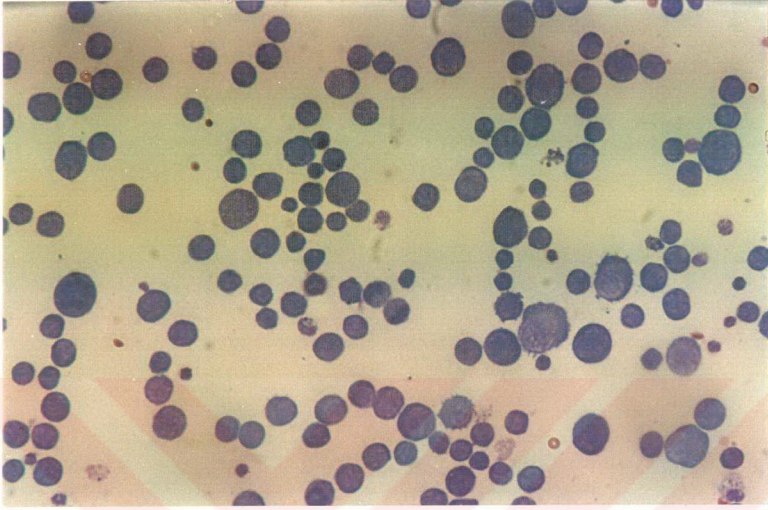
***p<0.001

Kanserli kontrol grubu ve lektin deneme gruplarında 2., 7. Ve 15. Gün Ehrlich ascites sıvı tümörü miktarları arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan p<0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

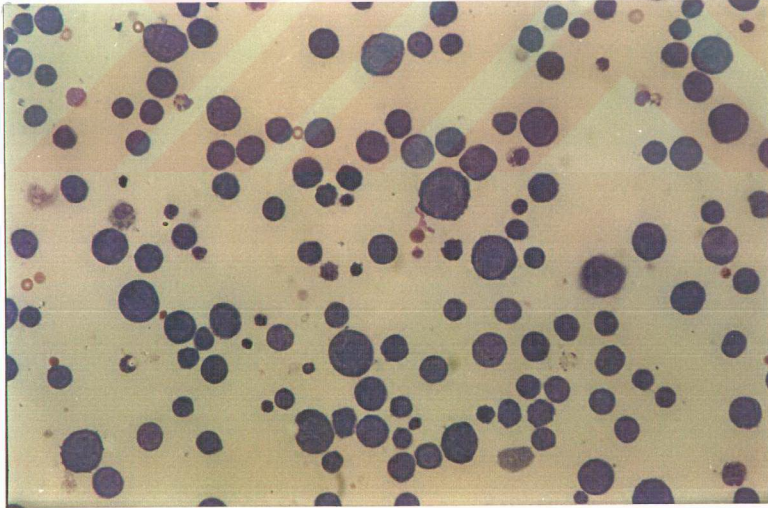


Grafik-17 Farelerde Ehrlich Ascites sıvısı (ml.)

5.4.Histopatolojik Bulgular

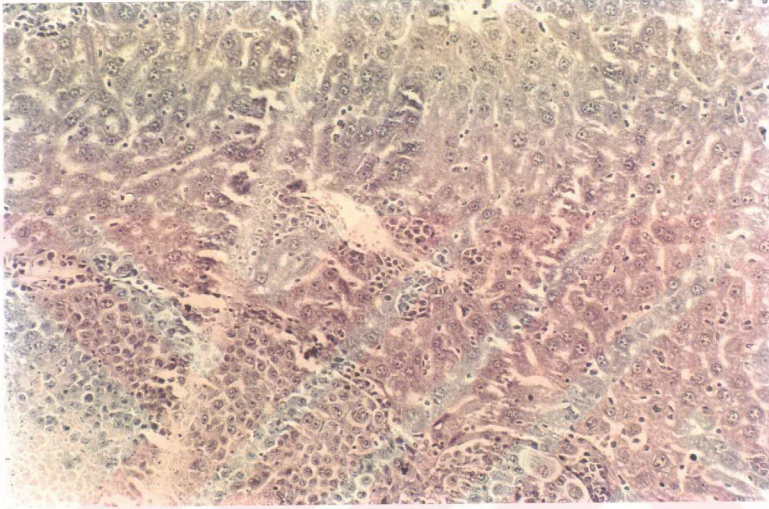


Resim- 1. Kanserli kontrol grubunun abdominal bölgesinden alınan Ehrlich ascites sıvı tümörü. H.E.20x1/4



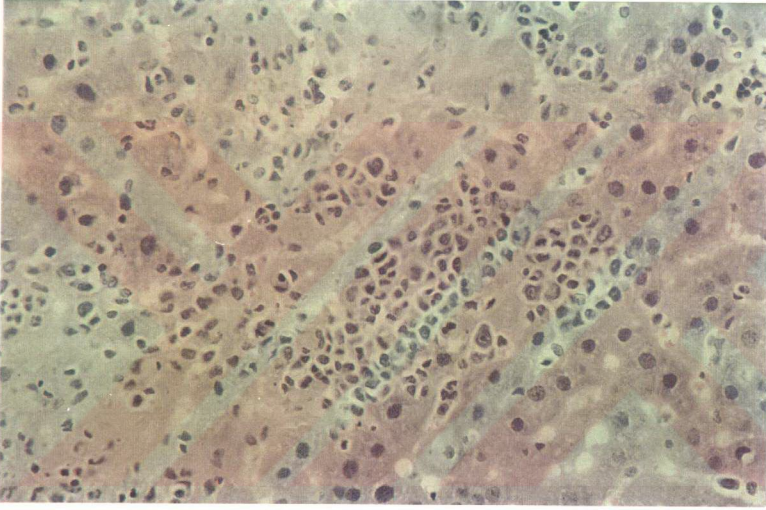
Resim- 2. Lektin deneme grubunun abdominal bölgesinden alınan Ehrlich ascites sıvı tümörü. H.E.20x1/4

Kanserli kontrol ve lektin deneme grubundaki hayvanların abdominal bölgesinden alınan sıvılardan hazırlanmış frotilerde atipi, bir veya birden fazla belirgin nükleolus, belirgin hiperkromasi ve yüksek mitotik aktivite gözlemlenmiştir (Resim-1,2).



Resim- 3. Kanserli kontrol grubunun 15. gününde karaciğer dokusuna metastaz. H.E.20x1/4

Kanserli kontrol grubundaki hayvanların 15. günlerindeki karaciğer dokusunun histopatolojik incelemelerinde organın periferinde karaciğeri çevreleyen epitel kökenli tümör hücreleri gözlenmiştir. Bu hücrelerde belirgin atipi, çift nükleus ve yer yer dev hücreler saptanmıştır. Karaciğerdeki venaların içerisinde ve lobcukların arasında aynı hücrelerin varlığı belirlenmiş ve karaciğerde ayrıca atipik hiperkromatik hücreler, bu hücrelerin aralarında lenfosit infiltrasyonu ve kupfer hücrelerinde artış gözlenmiştir (Resim-3).



Resim- 4. Lektin deneme grubunun 15. gününde karaciğer dokusuna metastaz. H.E.20x1/4

Lektin deneme grubundaki hayvanların 15. günlerindeki karaciğer dokusunun histopatolojik incelemelerinde Karaciğerdeki venaların içerisinde ve lobcukların ortakismında kümeler halinde belirgin atipik, mitotik figürler gösteren tümör hücrelerinin yaptığı metastaz gözlenmiştir (Resim-4).

6.TARTIŞMA

6.1.VAA'nın Farelerde Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Tedavi amaçlı kullanılması düşünölen maddelerin organizma üzerinde oluşturacağı etkinin tüm yönlerinin ortaya çıkarılması, bu maddelerin daha güvenli olarak kullanılmasını sağlayacağı bilinmektedir. Yapılan çalışmada, VAA'nın immunmodölatör dozunun üzerindeki miktarlarının serum, karaciğer ve böbrek enzim aktivitelerine ile tümör oluşumuna etkisi hakkında temel bilgiler edinmek ve konuya değişik bir bakış açısı kazandırmak amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, Ehrlich ascites sıvı tümörü farelerde deneysel tümör modeli olarak seçilmiştir. Karın boşluğında oluşan bu tümörün (99). Histopatolojik incelemelerinde, kanserli kontrol ve lektin deneme grubunda karın boşluğında Ehrlich ascites sıvı tümörünün bulunduğu ve tümörün karaciğere metastaz yaptığı saptanmıştır.

Çalışmada, 2., 7. ve 15. günlerde normal kontrol ve lektin kontrol grubuna göre, lektin deneme grubundaki serum AST ve ALT aktivite artışlarını $p<0.001$ düzeyinde, kanserli kontrol grubuna göre, lektin deneme grubundaki AST aktivitesinin artışları $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bulunurken, aynı gruplar da 2. ve 7. günlerdeki ALT aktivite artışları $p<0.001$, 15. gündeysse ALT aktivite artışı $p<0.05$ düzeyinde anlamlı saptanmıştır. Bu sonuçlar zibari ve ark. (100)'nın hastaneye gelen metastazik karaciğer tümörlü insanlarda serum AST ve ALT artışına ilişkin gözlemleriyle uyumludur.

AST karaciğerde dalak ve organlarda daha yoğun bir şekilde bulunduğundan, bu dokularda oluşan hücre yıkılımlarında da serum AST düzeylerinde yükselmeler

görülebilir ve hepatoselüler karaciğer harabiyetinin belirlenmesinde ALT daha büyük önem kazanır (12,49,61,67,69). Bu araştırmada serum AST düzeylerinin yükselmesinde literatür verilerine uygun olarak karaciğer dışı doku ve organlardaki, özellikle iskelet kasındaki hasarlardan ileri gelebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda 2. ve 7. günlerde kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki serum GGT aktivitesindeki artış $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bulunurken, 15. günde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artış istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır. Aynı günlerde, diğer iki kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışların $p<0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu saptanmıştır.

Organizmada birçok doku ve organda bulunan GGT'nin en yoğun bulunduğu doku böbreklerdir ve daha sonra sırasıyla karaciğer dalak pankreas ve bağırsaklar gelmektedir (12,66,68,93). Safra kesesinden safranin bağırsağa akışının engellendiği kronik hepatoselüler hastalıklar yada karaciğer yıkımlanmasına yol açan hastalıklarda plazma GGT düzeylerinin artışı klasik bulgudur (21,93). Ayrıca son yıllarda primer hepatik neoplastik hastalıklarda plazma GGT aktivitesinin daima yüksek bulunduğu ve GGT'nin hepatik tümörlerin tanısında diğer enzimlere göre daha güvenilir bir kriter oluşturduğu öne sürülmektedir (12). Bu çalışmadaki lektin deneme grubu serum GGT enzim aktivitesindeki artışlar yukarıdaki literatür verileriyle uyuşmaktadır. Fakat bu artışın daha çok Ehrlich ascites sıvı tümörünün safra kanalları ve karaciğere oluşturduğu kısmi basınçtan ileri gelebileceği düşünülmektedir ve lektin deneme grubundaki serum GGT aktivitelerinin normal kontrol ve lektin kontrol grubuna göre yüksek bulunması bu düşünceyi destekler niteliktedir.

2., 7. ve 15. günlerde kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki serum ALP aktivitesi artışları $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Özellikle böbrek ve kemiklerde çok yüksek, karaciğer ve beyinde yüksek, kaslarda ise düşük bir aktiviteye sahip olan ALP'nin plazma düzeylerinin yükselmesi karaciğer ve kemiklerden köken alan izoenzimleri sayesinde ortaya çıkar. Çünkü

plasental, renal ve intestinal kökenli izoenzimler 3-6 dakika gibi çok kısa bir yarılanma ömrüne sahiptirler ve plazmadaki total aktiviteye çok az katkıda bulunurlar (12,49,72,93).

Kolestazisin en iyi göstergesi plazma ALP düzeylerinin yükselmesidir. Plazma ALP düzeylerindeki artışlar tıkanmanın derecesiyle orantılıdır, tam tıkanma hallerinde artışlar ileri derecede olabilir (12,87,93). Karsinomlar gibi primer karaciğer neoplazilerinde normal sınırlardan en fazla 10 katı kadar, sekonder neoplazilerde (metastazik) orta dereceli yükselmeler gözlenir (87). Fahim ve ark. (22)'da solid ascites karsinomu bulunan farelerde karaciğere özgü serum ALP izoenzim aktivitesinin %82.3 oranında arttığını saptamışlardır. Chen ve ark. (15) hepatoselüler karsinomlu, Boyd (12) metastazik karaciğer neoplazili hastalarda serum ALP düzeylerinin yanısıra AST, ALT ve GGT düzeylerindeki yükseldiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada da lektin deneme grubundaki farelerin ALP düzeyindeki yükselme Ehrlich ascites sıvı tümöründen ileri gelmektedir ve bu olgu Fahim ve ark. (22), Chen ve ark. (15) ve Boyd (12)' un bulgularını desteklemektedir.

Kanser savaşımında bir çok madde kullanım alanı bulmuştur ve son yıllarda yoğun olarak kullanılan bir etken madde grubunda daha çok bitkisel kökenli lektinler oluşturmaktadır (27,32). Bu antitümöral etkili maddelerin kullanımında çok dikkatli olunması zorunludur. Çünkü ilaçların çoğunluğu optimal dozlarda kullanılmadıkları zaman canlılığın normal hücrelerindeki zarar verebilmektedirler. Lektinlerde tedavi amacıyla farklı dozlarda kullanılmışlardır (8,56,60,65,73,77,89).

Genel olarak VAA tedavi amacıyla 1ng/kg. dozunda kullanılmaktadır (6,7,8,56). Beuth ve ark.(8)'inca VAA'nın immunmodilatör etkisinin 0.5-1 ng dozlar arasında geliştiği, daha yüksek dozlarad immunmodilatör etkinin düştüğü belirlenmiştir. Keza yine Beuth ve ark.(7)'inca yürütülen bir başka çalışmada VAA'nın immunmodilatör dozlarının peritonel makrofaj sayısında, doğal öldürücü hücrelerin sitotoksitesinde granüler lenfosit sayısında, granulositlerin fagositik aktivitesinde, tümör nekrozis faktör- α , interlökin-1 ve 6 salgısında artış oluşturduğunu saptamışlardır.

Franz ve ark.(24) yaptıkları çalışmada, 10^7 Ehrlich ascites hücresinin inokülasyonundan sonra VAA'yı 10,100 ve 300 ng/fare dozunda uygulamışlar ve tümör gelişiminin belirgin bir şekilde düştüğünü ve yaşam süresinin uzadığını, 300-500 ng/fare verilen grupta hayvanlar hasta gibi görünmelerine karşın 20 gün sonrada hiçbir hayvanda tümör gelişiminin görülmediğini, 600 ng /fare dozunda VAA verilen gruptaysa 3 gün sonunda farelerin tamamının öldüğünü gözlemlediklerini ve yüksek dozların toksik etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fakat hangi dozların toksik doz olarak tanımlanabileceği de tam olarak ortaya konamamıştır ve tedavi dozlarında çok büyük çelişkiler vardır. Örneğin Beuth ve ark. (7) ve (8), Kunze ve ark. (56) immunmodilatör dozları 1ng/kg olarak verirken Franz ve ark.(24) 10-300 ng/fare dozları tedavi amacıyla kullanmış, daha yüksek dozların toksik etkili olduğu bildirilmiştir. Fakat Kutan ve ark. (58) Ehrlich ascites hücreleri verilen farelerde 83 mg/kg gibi yüksek dozlar, Rentea ve ark. (79) 2.5 mg/ kg. doz farelerde, Hajto ve Lanzerin (43), Hajto ve ark. (42) meme kanserli hastalarda 0.36 mg/kg. gibi çok yüksek miktarların tedavi amacıyla kullanıldığını bildirmektedirler.

VAA'nın immunmodilatör dozundan daha yüksek dozlarının çeşitli hücre populasyonlarında tanımlanamayan toksik bir etkiye neden olduğu bildirilmiş ve bu toksik etkinin VAA'nın β -galaktozit ve α -2,6-sialillaktozid ile sonlanan glikokonjugatlara olan spesifikliğınden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (30,56).

Kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışların VAA'nın toksik etkisinden kaynaklanabileceğini düşünürüz.

VAA'nın hücre mebrnında (11,30,55,59) ve hücre içi organellerindeki (17) şeker kalıntılarına bağlanması bu organellerin aktivitelerinde ve fonksiyonlarında değişikliğe neden olabilir. Buda Kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki enzim aktivitelerinin artışının bir başka nedeni olabilir.

15. gündeki kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki ALT aktivitesindeki artışın $p < 0.05$ düzeyinde olması ve GGT aktivitesindeki artışın ise

istatistiki açıdan anlamlı bulunmaması kanserli kontrol grubu ile lektin deneme grubundaki tümör oluşumunun hız ve miktarlarının birbirinden farklı olmasından kaynaklanabilir.

2., 7. ve 15. günlerde normal kontrol ve lektin kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki karaciğer AST ve ALT spesifik aktivitelerinin artışlarını $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulmuşken, 2. ve 7. günlerde kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki AST spesifik aktivite artışlarının $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı olduğunu, fakat 15. gündeki artışın $p < 0.001$ düzeyinde gerçekleştiğini bulduk. Aynı iki grup arasında ise karaciğer ALT spesifik aktivite artışlarını 2.gün için $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bulmuşken, 7. ve 15. günler için $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulduk. ALP için ise 2., 7. ve 15. günlerde tüm kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki artışları $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulduk.

Murray (71) normal bir hücre, tümör hücresi haline dönüştüğünde enzimlerde ve diğer biyokimyasal parametrelerde değişikliklerin oluşacağını, tümör hücresinin tüm fonksiyonlarının hızlı büyümeyi destekleyici yönde olduğunu ve bundan dolayı da anabolik olayların maksimum katabolik olayların ise minimum düzeylerde gerçekleştiklerini bildirmiştir. Ehrlich ascites sıvı tümörünün karaciğere metastaz yapmış olması, çalışmamızda normal kontrol ve lektin kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki karaciğer AST, ALT, ALP spesifik aktivitesindeki artışların adı geçen yazarın tümör hücreleri için belirtmiş olduğu değişikliklerden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışların ise VAA'nın hücre mebranında (11,30,55,59) ve hücre içi organellerindeki (17) şeker kalıntılarına bağlanmasının bu organellerin aktivitelerinde ve fonksiyonlarında meydana getirebileceği değişikliklerden kaynaklanabileceğini ileri sürebiliriz.

Kanserli kontrol grubuyla karşılaştırıldığında lektin deneme grubundaki karaciğer AST spesifik artışların 2. günde ve 7.günde $p < 0.01$ düzeyinde iken 15.günde $p < 0.001$ düzeyinde ve ALT için ise 2. günde $p < 0.01$ iken 7. ve 15.

günlerde $p < 0.001$ olması kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubunda kanser oluşumunun daha az olmasından kaynaklanabileceğini iddia edebiliriz .

2., 7. ve 15. günlerde, kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışları istatistiki açıdan anlamlı bulamadık. 2. gün lektin kontrol grubuna göre, lektin deneme grubundaki artış $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunurken, 7. gündeki artışı $p < 0.01$, 15. gündeki artışı ise $p < 0.001$ düzeyinde saptadık. 2., 7. ve 15. günlerde normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışları ise istatistiki açıdan $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulduk.

Normal kontrol ve lektin kontrol gruplarına, göre lektin deneme grubundaki karaciğer GGT spesifik aktivitesi artışlarının, karın boşluğundaki tümör sıvısının safra kanallarına oluşturabileceği basınçtan dolayı bu kanallarının kısmi tıkanmasına bağlı olarak enzimin hepatik sentezinin artmasından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz. Bunun bir başka nedeni olarak da Ehrlich ascites sıvı tümörünün karaciğere metastaz yapmasına bağlı olarak tümöral dokudaki hücrelerin artmış metabolizmalarından kaynaklandığını ileri sürebiliriz.

Bununla beraber, lektin kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki karaciğer GGT spesifik aktivitesine ait artışları 2.gün $p < 0.05$, 7.gün $p < 0.01$ ve 15.gün $p < 0.001$ olmasının nedeninin, lektin deneme grubundaki tümör miktarının giderek artmasının bir sonucu olduğunu belirtebiliriz.

Kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artış ve azalışların istatistiki açıdan anlamsız bulunmasının kanserli kontrol grubundaki tümör miktarının diğer gruba göre daha hızlı artmasının bir sonucu olarak düşünüyoruz.

2., 7. ve 15. günlerde normal kontrol ve lektin kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki böbrek AST, ALT ve ALP spesifik aktivite artışlarını $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulmamıza karşın, lektin kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki böbrek GGT spesifik aktivite artışlarını 2. ve 7. günlerde $p < 0.01$, 15. günlerdeki artışı ise $p < 0.001$ düzeylerinde anlamlı bulduk. 2., 7. ve 15. günlerde

normal kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki GGT artışlarının $p<0.001$ düzeyinde farklılıklar gösterdiğini saptadık. Aynı günler için kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki AST, ALT, GGT ve ALP aktivite artış ve azalışları ise istatistiki olarak anlamlı bulunamadı.

Bu artışlar, Ehrlich ascites sıvı tümörünün böbreklere metastaz yapmasından kaynaklanabilir. Buda normal ve lektin kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki enzim aktivite artışlarını açıklamaktadır.

Kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artış ve azalışları istatistiki açıdan anlamlı bulamadık. Bu da bize VAA'nın böbreklere bağlanmasının minimum düzeyde olduğunu düşündürmüştür.

Lektin kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki böbrek GGT artışlarını 2. ve 7. günlerde $p<0.01$ düzeyinde, 15. gündeki artışın ise $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bulunması bunun lektin deneme grubundaki kanser gelişiminden kaynaklandığını düşündürmüştür.

2., 7. ve 15. günlerde kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki serum CK aktivitesi artışlarını $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bulduk.

Kas hastalıklarından sonra serum CK aktivitesi hızla artar CK aktivitesindeki artış, kas hücre membranını bozan herhangi bir etken sonucu oluşur. Travmalar CK aktivitesinde artışa neden olan en yaygın sebeplerdir. Bunların dışında serum CK enzim artışları toksik ve metabolik kas hastalıklarında, malignant hiperpiroksi karsinoma durumlarında da olur (12.49.93).

Normal kontrol ve lektin kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışlar karın boşluğunda oluşmuş olan Ehrlich ascites sıvı tümöründen dolayı ortamın ozmotik basınç değişikliğinin hücre geçirgenliğine etki etmesi sonucu CK'nın hücre dışına çıkarak dolaşıma katılmasından dolayı olabileceğini ileri

sürebileceğimiz gibi Ehrlich ascites sıvı tümörünün kas bölgesine metastaz yapmasından ileri gelebileceğini de düşünebiliriz.

Yine Ehrlich ascites hücreleri ve VAA enjeksiyonlarının da kaslarda travmatik etki oluşturacağını düşünerek, bunun serum CK aktivitesinin yükselmesine katkıda bulunacağını ileri sürebiliriz.

Kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki artışlar VAA'nın kas hücrelerine bağlanması ile kas hücrelerinin geçirgenliğinde değişikliklere neden olması sonucu CK'nın hücre dışına çıkmasında kaynaklanabileceğini düşünebiliriz.

Karaciğer ve böbrek CK spesifik aktivitelerinde kontrol gruplarına göre lektin deneme grubundaki değişimlerin istatistiki açıdan anlamlı bulunamamasının bu enzimin karaciğer ve böbrek dokusuna spesifik olmamasından kaynaklandığını ileri sürebiliriz.

6.2.VAA'nın Farelerde Canlı Ağırlıklar Üzerine etkileri

2.gün lektin deneme grubuna göre kanserli kontrol grubundaki canlı ağırlık artışı istatistiki olarak anlamlı bulunamamışken, 7. günde canlı ağırlık artışı $p<0.05$ düzeyinde bulunmuştur. Yine aynı gruplar için 15. gündeki canlı ağırlık artışları $p<0.01$ düzeyinde anlamlı saptanmıştır. 2.gün lektin kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki canlı ağırlık artışı istatistiki olarak anlamlı bulunamamışken, 7. ve 15. günlerde lektin deneme grubundaki canlı ağırlık artışı $P<0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. 2.gün lektin deneme grubuna göre normal kontrol grubundaki canlı ağırlık artışları istatistiki olarak anlamlı bulunamamışken, 7. ve 15. günlerdeki canlı ağırlık artışlarını sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.001$ düzeylerinde anlamlı olduğu saptanmıştır.

Yukarıda bildirilen sonuçların, lektin deneme grubundaki canlı ağırlık artışlarının tümör artışı ile paralellik göstermesinden ve kanserli kontrol grubundaki

tümör oluşumunun lektin deneme grubuna göre daha hızlı ve daha fazla gelişmesinden kaynaklandığını düşünüyoruz.

6.3. VAA'nın Ehrlich ascites Sıvı Tümör Miktarı Üzerine Etkileri

2., 7. ve 15. günlerde lektin deneme grubuna göre kanserli kontrol grubundaki artışlar $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Bulgularımıza göre lektinin kanser oluşumunu tamamen engellediğini söyleyemesek bile geçiktirdiğini öne sürebiliriz.

Sonuç olarak VAA'nın serum, karaciğer ve böbrek enzim aktivitelerinde değişikliğe neden olduğu görülmüş ve bu durumda canlı organizmada istenmeyen sonuçlara yol açabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle ileriki dönemlerde yapılacak çalışmalarda VAA'nın immunmodülötör dozunun enzim parametreleri üzerine etkisinin incelenmesi ve en az aktivite değişimine neden olan dozun saptanmasının uygun olacağını önerebiliriz.

7.ÖZET

Lektin Verilen Normal ve Tümörlü Farelerde Serum, Karaciğer, Böbrek AST, ALT, GGT, ALP, CK Aktiviteleri

Bu çalışmada, intra peritoneal (i.p.) olarak verilen *Viscum album* Aglutinin (VAA)'nın serum, karaciğer ve böbrekte AST, ALT, GGT, ALP, CK enzim aktiviteleri üzerine olan etkisi incelenmiştir.

Deneme materyali olarak, 80 adet BALB/c erkek fare kullanılmış ve lektin deneme (LD), kanserli kontrol (KK), lektin kontrol (LK), normal kontrol (NK) olmak üzere dört eşit gruba ayrılmıştır.

Donor bir fareden 0.1ml (1.2×10^6) Erlich ascites hücresi alınmış ve bu hücreler kanserli kontrol ve lektin deneme grubuna i.p. olarak verilmiştir. Uygulama günü 0. gün olarak kabul edilmiştir. Aynı gün, normal kontrol ve lektin kontrol gruplarına 1 ml serum fizyolojik i.p. olarak verilmiştir. Lektin kontrol ve lektin deneme grubuna, 1. ve 2. günlerde 1ml./fare (100ng./fare) VAA verilirken, normal kontrol ve kanserli kontrol gruplarına 1ml. serum fizyolojik verilmiştir. Tüm gruplardan, kan örnekleri 2., 7. ve 15. günlerde göz venasından kapillar tüpler aracılığı ile serum tüplerine alınmıştır. Bu gruplardan, 2. günde 5 hayvan, 7. günde 5 hayvan, 15. günde ise 10 hayvan otopsiye gönderilmiş ve otopside, farelerden karaciğer ve böbrek organ örnekleri alınmıştır. Serum, karaciğer ve böbrek süpernatında AST, ALT, GGT, ALP, CK enzim aktiviteleri saptanmış ve Ehrlich ascites sıvı tümör miktarı ölçülmüştür.

Biyokimyasal analizlerin sonucunda, tüm kontrol gruplarına göre lektin deneme grubunda serum AST, ALT, GGT, ALP ve CK aktiviteleri yükselmiştir.

Tüm kontrol gruplarına göre lektin deneme grubunda karaciğer AST, ALT, GGT ve ALP spesifik aktiviteleri yükselirken, CK spesifik aktivitesi değişmemiştir.

Tüm kontrol gruplarına göre lektin deneme grubunda böbrek AST, ALT, GGT ve ALP spesifik aktiviteleri yükselirken, kanserli kontrol grubuna göre lektin deneme grubundaki enzim spesifik aktivitelerinde anlamlı değişimler bulunamamıştır.

Sonuç olarak VAA'nın yüksek dozunun, serum ve dokuların enzim aktivitelerini artırdığı, bu artışında VAA'nın toksik etkisinden kaynaklanabileceğini öne sürebiliriz.



8.SUMMARY

Serum, Liver, Kidney Enzymes Activities in Mice Normal and With Tumor Are Given Lectin

In this study, the effect of *Viscum album* Agglutinine (VAA) given by i.p. route on the activities of AST, ALT, GGT, ALP, CK enzymes were examined in sera, livers and kidneys of mice

As experimental material, 80 BALB/c male mice were used and divided into four equal groups as lectin trial (LD), cancer control (KK), lectin control (LK) normal control (NK) .

0.1ml (1.2×10^6) Erlich ascites cells were taken from a donor mouse and those cells were given to the cancer control and lectin trial groups by i.p. route. Application day was assumed as day 0. In the same day, 1ml. serum physiologic was given normal control and lectin control groups by i.p.route. While 1ml/mouse (100ng./mouse) VAA was given in lectin control and lectin trial groups by i.p. in 1st and 2nd days. 1 ml/mouse serum physiologic was given to the normal control and lectin control groups. From the whole groups, the blood samples were taken from ocular vein via capillary tubes into serum tubes in 2nd , 7th and 15th days. In the 2nd day 5 animals, 7th day 5 animals, 15th day 10 animals were sent for autopsy. In the autopsy, samples of liver and kidney tissues were taken from mice. AST, ALT, GGT,

ALP, CK enzyme activities were measured in serum and supernatants of liver and kidney and amount of Ehrlich ascites was measured.

As a result of biochemical analyses, serum AST, ALT, GGT, ALP, CK activities in lectin trial group increased in comparison with whole control groups.

While liver AST, ALT, GGT, ALP specific activities increased in lectin trial group in comparison with whole control groups, CK specific activity was not changed.

While kidney AST, ALT, GGT, ALP specific activities increased in lectin trial group in comparison with normal control and lectin control groups, in the enzymes specific activities was not found to be significant in lectin trial group in comparison with cancer control group.

The increase of enzymes activities of sera and tissues were conclude to be a result the toxic effect of VAA.

9.KAYNAKLAR

1-Alibaşoğlu M, Yeşildere T. Veteriner Genel Patoloji ve Tumor Bilimi.II. Baskı, İstanbul,1994;150-171.

2-Anonim: Bio-clinica AST, ALT, GGT, ALP, CK, TP optimize ticari kitleri. Biobak Laboratuvar Malzemeleri Sanayi ve Ticaret A Ş 1997.

3-Aoki T, Kawano JJ, Oinuma T, Haraguchi Y, Eto T, Suganuma T. Human colorectal carcinoma-specific glycoconjugates detected by pokeweed mitogen lectin. J Histochem Cytochem 1993; 41 (9): 1321-1330.

4-Bardost A., Brkovic D, Gabius, HJ. Localization of endogenous sugar-binding proteins (lectins) in tumors of the central and peripheral nervous system by biotinylated neoglycoproteins. Anticancer Res 1991; 11:1183-1188

5-Baytop T. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. İstanbul Üniv Ecz Fak Yay No 40, İstanbul,1984.

6-Beuth J, Ko HL, Gabius HJ, Burrichter H, Oette K, Pulverer G. Behavior of lymphocyte subsets and expression of activation markers in response to immunotherapy with galactoside-specific lectin from mistletoe in breast cancer patients. Clinical Invest 1992; 70: 658-661.

7-Beuth J, Ko HL, Gabius HJ, Pulverer G. Influence of treatment with the immunomodulatory effective dose of the β -galactoside-specific lectin from

mistletoe on tumor colonization in BALB/c-mice for two experimental model systems. *In vivo* 1991; 5: 29-32

8-Beuth J, Ko HL, Tunggal L, Buss G, Jeljaszewicz J, Steuer MK, Pulverer G. Immunaktive Wirkung von Mistlektin-1 in Abhängigkeit von der Dosierung. *Arzn Forsch/Drug Res* 1994; 44 (11): 407-410.

9-Beuth J, Ko HL, Tunggal L, Steuer MK, Geisel J, Jeljaszewicz J, Pulverer G. Thymocyte proliferation and maturation in response to galactoside-spezifischer Mistletoe-Lectin-1. *In vivo* 1993; 7: 407-410.

10-Bird G. Erythrocyte agglutinins from plants. In: Franz H. Mistletoe lectins and their A and B chains. *Oncology* 1986; 43 (1): 23-34.

11-Bovin NV, Gabius HJ. Polymer-immobilized carbohydrate ligands: Versatile chemical tools for biochemistry and medical sciences. *Chem Soc Rev* 1995; 413-421.

12-Boyd JW. Serum enzymes in the diagnosis of disease in man and animals. *J Comp Path* 1988; 98: 381-404.

13-Boyd JW. The comparative activity of some enzymes in sheep, cattle and rats normal serum and tissue levels and changes during experimental liver necrosis. *Res Vet Sci* 1962; 3: 256-268.

14-Calton CA, Abel C, Patchett J, Keri J, Yao J. Lectin staining of cultured CNS microglia. *J Histochem Cytochem* 1992; 40 (4): 505-512.

15-Chen C, Chen PJ, Yang PM, Lai MY, Tsang YM, Chen DS. Clinical and microbiological features of liver abscess after transarterial embolization for hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1997; 92 (12): 2257-2259.

16-Egelhardt JA, Carlton WW, Rebar HA. Rubratoxin B mycotoxicosis in the Swiss ICR mouse. Fd Chem Toxic 1988; 26 (5): 459-466.

17-Elinger A, Pavelka M. Subdomains of the rough endoplasmic reticulum in colon goblet cells of rat: Lectin-cytochemical characterization. J Histochem Cytochem 1992; 40 (7): 919-930.

18-Engle MJ, Goetz GS, Alpers DH. Caco-2 cells express a combination of colonocyte and enterocyte phenotypes. J Cell Physiol 1998;174 (3): 362-369.

19-Ergun F, Deliorman D, Şener B. Viscum album L. (Ökse otu) (Loranthaceae) bitkisinin morfolojik özellikleri ve Türkiye'deki yayılışı hakkında bazı araştırmalar. Ot Sist Bot Derg 1994; 1 (2): 47-62.

20-Ersoy E, Bayşu N. Biyokimya. Ankara Üniv Vet Fak Yay No 408, Ankara, 1986.

21-Ersoy E, Bayşu N. Pratik Biyokimya. Ankara Üniv Vet Fak Yay No 372, Ankara, 1981.

22-Fahim FA., Esnat AY, Mady EA, Amin MA. Serum LDH and ALP isozyme activities in mice bearing solid Ehrlich carcinoma and/or treated with the maximum tolerated dose (MTD) of aloin. Dis Markers 1997;13 (3): 183-193.

23-Franz H. Mistletoe lectins and their A and B chains. Oncology 1986; 43 (1): 23-34.

24-Franz H, Friemel H, Buchwald S, Plantikow A, Kopp J, Körner I. The A chain of lectin I from European mistletoe (Viscum album) induces interleukin-1 and interleukin-2 in human mononuclear cells. Lectin Bio Biochem Clinical Biochem 1990; 7: 247-250.

25-Fukunaga T, Kajkawa I, Watanabe Y, Suziki N, Takeya K, Itokawa H. Studies on the constituents of the european mistletoe, *Viscum album* L. *Chem Pharm Bull* 1988; 36 (3): 1185-1189.

26-Gabius HJ. Endogenous lectin in tumors and the immune system. *Cancer Invest* 1987; 5 (1): 39-46.

27-Gabius HJ. Tumor lectinology: At the intersection of carbohydrate chemistry, biochemistry, cell biology, and oncology. *Angew Chem Int* 1988; 27: 1267-1276.

28-Gabius HJ. Influence of type of linkage and spacer on the interaction of β -galactoside-binding proteins with immobilized affinity ligands. *Anal biochem* 1990; 189: 91-94.

29-Gabius HJ, Gabius S, Joshi S, Schroeder M, Manzke WM, Westerhausen M. From III-defined extracts to the immunomodulatory lectin: Will there be a reason for oncological application of mistletoe. *Planta Med.* 1994; 60: 1-7.

30-Gabius HJ, Gabius S. Tumorlektinologie-status und perspektiven klinischer anwendung. *Naturwissenschaften* 1990; 77: 505-514.

31-Gabius HJ, Brkovic D, Wosgien B, Bardost A. β -galactoside- specific lectins from heart and placenta: Their detection by different methods and analysis of their glycoprotein ligands. *Eur Arch Biol* 1992; 103: 15-24.

32-Gabius HJ, Schröter C, Gabius S, Brinck U, Tietze LF. Binding of T-antigen-bearing neoglycoprotein and peanut agglutinin to cultured tumor cells and breast carcinomas. *J Histochem Cytochem* 1990; 48 (41): 1625-1631.

33-Gabius HJ, Walzel H, Joshi S, Kruij J, Kojima S, Gerke V, Kratzin H, Gabius S. The immunomodulatory β -galactoside-specific lectin from

mistletoe: Parialsequence analysis, cell and tissue binding, and impact on intracellular biosignalling of monocytic leucemia cells. *Anticancer Res* 1992; 12: 669-676.

34-Gabius S, Gabius HJ. Sugar reseptors of the stromal cell layer in human long-term bone marrow cultures: Their presence, modulatory response to chances in the microenvironment and potential role in cellular adhesion. *Blut* 1990; 61: 232-239.

35-Gabius S, Kayser K, Bovin VN, Yamazaki N, Kojma S, Kaltner H. Gabius HJ. Endogenous lectins and neoglycoconjugates: A sweet approach to tumor diagnosis and targeted drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 1996; 42 (4): 250-261.

36-Gabius S, Wawoizny R, Wilholm S, Martin U, Wormann B, Gabius HJ. Adhesion of human lymphoid cell lines to immobilized carbonhydrates and to bone-marrow stromal cell layers by surface sugar receptors. *J Cancer* 1993; 54: 1017-1021.

37-Gabius S, Yamazaki N, Hanewacker W, Gabius HJ. Regulation of distribution, amount and ligand affinity of sugar receptors in humman colon carcinoma cells by treatment with sodium butyrate, retinoic acid and phorbol ester. *Anticancer Res* 1990; 10: 1005-1012

38-Galanina OE, Kaltner H, Khraltsova LS, Bovin NV, Gabius HJ. Further refinement of the ligand-binding charcteristics for the galactoside- binding mistletoe lectin, a plant agglutinin with immunomodulatory potency. *J Mol Recognit* 1997; 10 (3): 139-147.

39-Gayon GR, Jung ML, Beck JP, Anton R. Effect of fetal calf serum on the cytotoxic activity of mistletoe (*Viscum album L.*) lectins in cell culture. *Phytotherapy Res* 1995; 9: 336-339.

40-Gayon GR, Jung ML, Scala DJ, Beck JP. Comparison of the effect of fermented and unfermented mistletoe preparation on cultured tumor cells. Oncology 1996; 43 (1): 35-41.

41-Godt KB, Gabius HJ. Heparin-binding lectin from human placenta: Purification and partial molecular characterization and its relationship to basic fibroblast growth factors. Biochem 1989; 28 (16): 6531-6537.

42-Hajto T, Hostanska K, Frei K, Rordorf C, Gabius HJ. Increased secretion of tumor necrosis Factor α , interleukin 1 and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to β -galactoside-specific lektin from clinically applied mistletoe extract. Cancer Res 1990; 50: 3322-3326.

43-Hajto T, Lanzerin C. Immunomodulatory effect of iscador: A *Viscum album* preparation. Oncology 1986; 43 (1): 51-65.

44-Henry BJ, Clinical Diagnosis Management by Laboratory Methods. 18. ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1991;230-293.

45-Itoh A, Itzuka K, Natori S. Antitumor effect of sarcophaga lectin on murine transplanted tumors Jpn J Cancer Res 1985; 76: 1027-1033.

46-Ito K, Komiyama Y, Ogawa N, Egawa H, Takahashi H. A case osteopetrosis with an abnormal CK-MB/T-CK retiol. Rinsho Byori 1997; 45 (12):1197-1200.

47-Jordon E, Wagner H. Structure and properties of polysaccharides from *Viscum album* (L.). Oncology 1986; 43 (1): 8-15.

48-Jose SE, Villalora E, Gabius HJ, Villalobo A. Inhibition of the adenylation of liver plasma membrane-bound proteins by plant and mammalian lectins. Biol Chem Hoppe-sayler 1993; 374: 133-141.

49-Kaneko JJ, Cornelius CE. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 2. ed Academic Press New York, San Fransisco, London 1971;161-230.

50-Kayser K, Andre S, Böhm G, Donaldo S, Fritz P, Kaltner H, Kayser D, Kunze WP, Nehrlich A., Zeng FY, Gabius HJ. Developmental regulation of presence of binding sites for neoglycoproteins and endogenous lectins in various embryonic stages of human lung, liver and heart. Roux's Arch Dev Biol 1995; 204: 344-349.

51-Kayser K, Bovin NV, Korchagian EY, Zeilinger C, Zeng FY, Gabius HJ. Correlation of expression of binding sites for syntetic blood group A-, B- and H-trisaccharides and for sarcolectin with survial of patients with bronchial carcinoma. Euro J Cancer 1994; 30 (5): 653-657.

52-Khwaja AT, Dias CB, Pentecost S. Recent studies on the anticancer activites of mistletoe (*Viscum album*) and its alkaloids. Oncology 1986; 43 (1): 42-50.

53-Kleeb SR, Xavier JG, Filho RF, Dagli MLZ. Effect of haloperidol on the development of the solid Ehrlich tumor in mice. Life Sci 1997; 60 (4/5) 69-74.

54-Klett CY, Anderer FA. Activation of natural killer cell cytotoxicity of human blood monocytes by low molecular weight component from *Viscum album* extract. Arzn Forsch/Drug Res 1989; 39 (12): 1580-1585.

55-Knibbs RN, Goldstein IJ, Rateliffe RM, Shibuya N. Characterization of the carbohydrate binding specificity of the leukoagglutinating lectin from *Maackia amurensis*. Comparison with other sialic acid-spesific lectins. J Bio Chem 1991; 266 (1): 83-88.

56-Kunze E, Schulz H, Ahrens H, Gabius HJ. Lack of an antitumoral effect of immunomodulatory galactoside- spezifik mistletoe lectin on N-methyl-N-nitrosourea-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. *Exp Toxic Pathol* 1997; 49 (422): 1-10.

57- Kuttan G, Menon GL, Kuttan R. Prevention of 20-methylcholanthrene-induced sarcoma by a mistletoe extract, Iscador. *Carcinogenesis* 1996; 17 (5): 1107-1109.

58-Kuttan G, Vasudevan DM, Kuttan R. Effect of a preparation from *Viscum album* on tumor development in vitro and in mice *J Ethnopharm* 1990; 29: 35-41.

59-Lee TR, Gabius HJ, Lee CY. The sugar-cobbing area of the galactose-specific toxic lectin of mistletoe extends beyond the terminal sugar residue: comparison with a homologous toxic lectin, ricin. *Carhyd Res* 1994; 254: 269-276.

60-Leroi R. Iscador therapy of inoperable colorectal carcinoma. *Krebsgeschehen* 1979; 6:163-165.

61-Lindena J, Sommerfeld U, Hapfel C, Trauschold I. Catalytic enzymes activity concentration in tissue of man, dog, rabbit, guinea pig, rat and mause. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 34-47.

62-Lorea P, Goldschmidt D, Derro F, Salmon I, Bovin N, Gabius HJ, Kiss R, Danguy A. In vitro characterizotion of lectin-induced alterations on the proliferative activity of three human melanoma cell lines. *Melanoma Res* 1997; 7 (5): 353-363.

63-Luther P, Mehnert W, Graffi A, Prokop O. Reaktioneneiniger antikörperähnlicher substanzen aus insekten. In: Franz H. Mistletoe lectins and their A and B chains. Oncology 1986; 43 (1): 23-34.

64-Männel DN, Becker H, Gundt A, Kist A, Franz H. Induction of tumor necrosis factor expression by a lectin from *Viscum album*. Cancer Immunology Immunotherapy 1991; 33:177-182.

65-Mannori G, Mugnai G, Ruggieri S. Lectin reactivity of murine fibrosarcoma lines with a different metastatic potential. Cancer Let 1991; 59: 133-138.

66-Mengi A. Biyolojik ve stress faktörlerinin şıçan karaciğerindeki gamma glutamil transpeptidaz (γ -GT) aktivitesine tesiri. VI. Bilim Kongresi Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu Tebliğleri. 1979; 287-292.

67-Mengi A. Gamma Glutamil Transpeptidaz(γ -GT). İst Üniv Vet Fak Derg 1980; 6 (1/2): 95-102.

68-Mengi A. Pratik Biyokimya ve Veteriner Hekimliğinde Kullanılan Testler. İst Üniv Vet Fak Yay No 2, İstanbul, 1994.

69-Mengi A. Biyokimya. İstanbul, 1997; 158-185.

70-Müller EA, Anderer FA. A *Viscum album* oligosaccharide activating human natural cytotoxicity is an interferon γ inducer. Cancer Immunology Immunotherapy 1990; 32: 221-227.

71-Murray RK., Mayes AP, Granner DK., Rodwell M. Harper'ın Biyokimyası. Barış Kitapevi, İstanbul, 1993; 832-835.

72-Nakayama M, Gorai I, Minaguchi H, Rosenquist C, Qvist P. Purification and characterization of bone-specific alkaline phosphatase from a human osteosarcoma cell line. *Calcif Tissue Int* 1998; 62 (1): 67-73.

73-Naresh AR, Udupa N, Umadevi P. Niosomal plumbagin with reduced toxicity and improved anticancer activity in BALB/c-mice. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48: 1128- 1132.

74-Narita T, Numao H. Lectin binding patterns in normal, metaplastic, and neoplastic gastric mucosa. *J Histochem Cytochem* 1992; 40 (5): 681-687

75-Özcan A, Mengi A. Ratlara Oral Olarak Verilen Alkolün Serum, Karaciğer, böbrek GGT, ALT ve AST Düzeyleri ile Karaciğer Yağlanması Üzerine Etkileri. *J Vet Animal Sci* 1998; 22: 181-185.

76-Özhavala M. Köpeklerde İntramuscular Enjeksiyon Sonunda Oluşan Kas Yıkılımının CK (Creatinin kinase) Aktivitesi Üzerine Etkisi. İstanbul Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul, 1996.

77-Pal S, Banerjee A, Hazra B. Pharmacological studies on the effect of the treatment of Siwiss A mice with diospyrin, a tumour-inhibitory plant product, and its synthetic derivatives. *Phytotherapy Res* 1996; 10: 393-397.

78-Ren DL, Wang JZ, Noda H, Amono H, Ogawa S. The effect of an algal polysaccharide from *Gloiopeltis tenax* on transplantable tumors and immune activities in mice. *Planta Med* 1995; 61 (2): 120-125.

79-Rentea R, Lyon E, Hunter R. (1981) Biologic properties of Iscador: A *Viscum album* preparation. *Lab Invest* 1981; 44 (1): 43-48

80-Robins SL, Kumar V. Basic Pathology. 4. ed W.B. Saunders Compampany, Philadelphia, London, Toronto, Sydney, Tokyo, Hong Kong 1987; 272-289.

81-Saussez S, Marchant H, Decaestecker C, Hassid S, Jortay A, Schuring MP, Gabius HJ, Danguy A, Salmon I, Kiss R. Quantitative glycohistochemistry defines new prognostic markers for cancers of the oral cavity. *Cancer* 1998; 82 (2): 252-260.

82-Schaller G, Urech K, Giannattasio M. Cytotoxicity of different viscotoxins and extracts from the european subspecies of *Viscum album* L. *Phytotherapy Res* 1996; 10: 473-477.

83-Siebert HC, Adar R, Arango R, Burchert M, Kaltner H, Kayser H, Tajkhorshid E, Von-der-Lieth CW, Kaptein R, Sharon N, Vliegenthart JF, Gabius HJ. Involment of laser photo-CIDNP (chemically induced dynamic nuclear polarization) reactive amino acid side chains in ligand binding by galactoside-specific lectins in solution. *Eur J Biochem* 1997; 249 (1): 27-38.

84-Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical Methods*. 7. ed. The Iowa State Univ, Iowa, USA. 1980.

85-Stirpe F, Sandvig K, Olsnes S, Phil A. Action of viscumin, a toxic lectin from mistletoe, on cells in culture. *J Biologicalchem* 1982; 257(22): 13271-13277.

86-Şener S. Etanolün kobayda karaciğer ve serum Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) aktivitesi üzerine etkisi. *İst Üniv Vet Fak Derg* 1988; 14: 1-10.

87-Tietz, N.W. *Fundamental of Clinical Chemistry*. 3th ed W.B. Saunders Company 1987; 253-396

88-Timoshenko AV, Gabius HJ. Influence of galactoside-specific lectin from *Viscum album* and its subunits lectin from *Viscum album* and its subunits on

cell aggregation and selected intracellular parameters of rat thymocytes. *Planta Med* 1994; 61:130-133.

89-Timoshenko AV, Gorudko IV, Kaltner H, Cherenkevich SN, Gabius HJ. Metabolic inhibitors as tools to delineate participation of distinct intracellular pathways in enhancement of lactose-induced dissociation of neutrophil and thymocyte aggregates formed by mediation of a plant lectin. *Biochem Mol Biol Int* 1997; 43 (3): 477-487.

90-Timoshenko AV, Kayser K, Drings P, Kolb G, Havemann K, Gabius HJ. Modulation of lectin-triggered superoxide release from neutrophils of tumor patients with and without chemotherapy. *Anticancer Res* 1993; 13:1789-1792.

91-Töre İR. Enzim testleri ve veteriner kiiniğinde kullanımları. *İ Ü Vet Fak Derg* 1978; 4 (2): 39-62.

92-Trautwein HM, Schutheis G, Trautwein G. Demonstration of amoeboid and ramified microglial cells in pre- and postnatal bovine brains by lectin histochemistry. *Ann Anat* 1996; 178: 25-31.

93-Turgut,K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhisi. Özel baskı.

94-Türkmen G, Gürel A, Öztapak KÖ, Mengi A. Ratlarda tümör gelişimi üzerine lektinin etkisi. *İ Ü Vet Fak Derg* 1997;23 (2):

95-Walther MM, Johnson B, Culley D, Shah R, Weber J, Venzon D, Tang JC, Linehan WM, Rosenbeg SA. Serum interleukin-6 levels in metastatic renal cell carcinoma before treatment with interleukin-2 correlates with paraneoplastic syndromes but not patient survival. *J Urol* 1998; 158 (3): 718-722.

96-Yang K, Cohen L, Lipkin M. Lectin soybean agglutinin: measurements in colonic epithelial cells of human subjects following supplemental dietary calcium. *Cancer Let* 1991; 56: 65-69.

98-Zeng YF, Kratzin H, Gabius HJ. Migration inhibitory factor-binding sarcolectin from human placenta is indistinguishable from a subfraction of human serum albumin. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1994; 375: 393-399.

97-Zeng FY, Weishui Y, Kartzin H, Stahl B, Karas M, Gabius HJ. The major binding protein of the interferon antagonist sarcolectin in human placenta is a macrophage migration inhibitory factor. *Arc Biochem Bioph* 1993; 303(1): 74-80.

99-Zeybek Ü. En Uygun Ehrlich Ascites Tümör modellerinin Farklı Soy ve Cinsiyetteki Farelerde Gösterilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Deneysel Hayvanların Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul,1996.

100-Zibari GB, Riche A, Zizzi HC, McMillan RW, Aultman DF, Boykin KN, Gonzalez E, Nandy I, Dies DF, Ghalson CF, Holcombe RF, McDonald DJ. Surgical and nansurgical managment of primary and metastatik liver tumors *Am Surg* 1998; 64 (3): 211-220.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

10.ÖZGEÇMİŞ

1970 Yılında Kırklareli'nin Babaeski ilçesinde doğdum ilk, orta ve lise eğitimimi aynı ilçede tamamladım. 1993 yılında İstanbul Üniv. Veteriner Fakültesinden mezun oldum. 1993-1994 öğretim yılında İstanbul Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında doktora eğitime başladım. 1995 yılında İstanbul Üniv. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Halen aynı görevime devam etmekteyim. Evliyim.

