

Bleomisin ile Oluşturulan Akciğer Fibrozisinde Pürin Katabolizması Enzim Aktiviteleri Üzerine CAPE'nin Etkisi

Hüseyin ÖZYURT^{a1}, Birsen ÖZYURT², Sadık SÖĞÜT³, Şemsettin ŞAHİN¹, İsmail TEMEL⁴, Ömer AKYOL⁵

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, TOKAT

³Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, HATAY

⁴İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, MALATYA

⁵Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Giriş: Antikanserijen etkili bleomisin (BLM), kanser tedavisi sırasında en sık rastlanan yan etkisinin pulmoner fibrozis (PF) olduğu bilinmektedir. Son yıllarda, PF'den esas sorumlu ajanın, normal metabolik olaylarda üretilen reaktif oksijen türleri olduğu ileri sürülmektedir. Bu deneysel çalışmada, antiinflamatuar, sitostatik, antikanserijen, antiproliferatif ve antioksidan etkisi olduğu bilinen CAPE'nin BLM'e bağlı PF'deki önleyici veya hafifletici etkilerinin araştırılması planlandı.

Gereç ve Yöntem: 36 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan Kontrol, BLM, BLM+ vitamin E (vit E) ve BLM+ CAPE olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. BLM (7.5 mg/kg, tek doz) intratrakeal, CAPE ve vit E intraperitoneal olarak uygulandı. 14. günde akciğer dokuları çıkarıldı, ksantin oksidaz (XO), adenosin deaminaz (ADA) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri çalışıldı.

Bulgular: BLM uygulanan sıçanlarda, XO ve ADA enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış vardı. CAPE ve E vit uygulanması ile bu iki enzim aktiviteleri özellikle BLM alan gruba göre anlamlı bir azalma gösterdi. Antioksidan enzim olan GSH-Px enzim aktivitesinde BLM verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma vardı. CAPE'nin bu parametreler üzerine düzenleyici etkileri: CAPE uygulandıktan sonra XO ve ADA enzim aktivitelerinde azalma, GSH-Px enzim aktivitesinde artma şeklindedir.

Sonuç: BLM'e bağlı PF'in önlenmesinde antioksidan veya serbest radikal süpürücü etki olarak kullanılan dozlarda CAPE, E vit den daha etkilidir. CAPE, pürin katabolizması yanında hem oksidan hem de antioksidan sistemleri etkileyerek BLM'e bağlı PF üzerinde iyileştirici etkiye sahiptir. ©2007, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Ksantin oksidaz, Adenosin deaminaz, Glutatyon peroksidaz, Bleomisin, Sıçan

ABSTRACT

Effect of CAPE on Purin Catabolising Enzyme Activities in Bleomycin-Induced Lung Fibrosis

Objectives: Pulmonary fibrosis (PF) induced by bleomycin (BLM) is one of the more common side effects encountered during cancer treatment. It has been suggested that the main responsible agent in PF is ROS which are generated also in normal metabolic conditions. In this study, we investigated the preventive or attenuating effects of caffeic acid phenethyl ester that has been demonstrated to have anti-inflammatory, cytocytatic, anticarcinogenic, antiproliferative and antioxidant effects on BLM-induced PF.

Material and Methods: Thirty-six rats were divided four groups as sham, BLM, BLM+vitamin E and BLM+CAPE groups. BLM intratracheally, CAPE ve vit E intraperitoneally were administered. At day 14th, lung tissues were removed, xanthine oxidase, adenosine deaminase ve glutathione peroxidase enzymes activity were determined.

Results: BLM application to the rats resulted in a significant increase in the XO and ADA activities as compared to the controls. Administration of CAPE and vit E led to the remarkable reduction of XO and ADA activities compared to the rats treated with BLM. There was a decreased in GSH-Px activity in BLM group to the control group. CAPE had a regulator effect on these parameters: the decreased in XO and ADA activities and the increased in GSH-Px activity were seen after CAPE application.

Conclusion We suggest that CAPE is more effective on the prevention of BLM-induced fibrosis via antioxidant and free radical scavenger properties than vit E at the doses used in the present study. CAPE has some attenuating effects PF affecting both oxidant and antioxidant systems as well as purin catabolisation. ©2007, Fırat University, Medical Faculty

Key words: Xanthine oxidase, Adenosine deaminase, Glutathione peroxidase, Bleomycin, Rat.

Bleomisin (BLM), streptomyces verticillus türünden elde edilmiş antitümöral etkili bir antibiyotiktir (1). Akciğer, böbrek, periton ve lenf sisteminde yüksek oranda konsantr olduğu gösterildiği için deri kanserleri, baş boyun kanserleri,

uterus kanseri, serviks kanseri, hodgkin hastalığı, retikülosarkom, lenfosarkom, embriyonel hücreli koriokarsinom ve teratokarsinomun tedavisinde kullanılır. BLM, bleomisin-demir kompleksi oluşturarak moleküler oksijeni, süperoksit ve

^a Yazışma Adresi: Dr. Hüseyin Özyurt, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Tokat
Tel: +90 356 2129500 Faks: +90 356 2129417 e-mail: huseyinozyurt@hotmail.com

hidroksil radikallerine dönüştürür. Bu da DNA' da iplikcik kırılmalarına ve DNA-RNA-protein sentezinde (transkripsiyon ve translasyon basamakları) hasara sebep olarak anti-neoplastik etki gösterir (2). Bleomisini inaktive eden hidrolaz enziminin akciğer dokusunda diğer dokulara oranla çok düşük düzeyde bulunmasından dolayı yan etki olarak özellikle akciğerlerde yaygın fibrozis ve interstisyel pnömoni oluşturur ve BLM kullanılan hastalarda akciğer hasarı gelişme oranı %3-40 oranında değişmektedir (3). Bu durumda gelişen akciğer fibrozisinde serbest oksijen radikallerinin önemli faktörlerden biri olduğu iddia edilmektedir (4).

Bu aktive olmuş oksijen türleri DNA kırıklarının yanı sıra ilave olarak lipit peroksidasyonuna da sebep olduğu gösterilmiştir (5). Kafeik asit fenetil ester (CAPE), yapıcı flavanoidlere benzeyen ve iki halkasal yapı içeren kimyasal bir bileşen olup halkalardan bir tanesi molekülün hemen hemen bütün kimyasal özelliklerini gösteren fonksiyonel gruplar olan iki adet -OH grubu taşır.

Bu hidroksil grupları diğer bazı antioksidan vitaminler de ve vitamin olmayan antioksidan maddelerde olduğu gibi aktif şekilde elektron alıp vererek oksidasyon-redüksiyon (redoks) özellikleri gösterir. Yapısı uzun aromatik ve alifatik özellikli karbon grupları taşıdığı için aynı zamanda lipofilik özellikte gösterir. Bu özelliği, molekülün rahatça vucuttaki membran yapılarını geçmesini ve etki edeceği bölgeye kolay ulaşmasını sağlamaktadır. CAPE, antiinflamatuar, sitostatik, antikansero-jen, antiproliferatif, antioksidan özellikleri gösterilmiş olup (6-13) fibrozisteki etkisinin çalışıldığı çok az çalışmaya rastlanmıştır.

Bu çalışmalarda CAPE'nin antioksidan etkileri gösterilmiş (14) ancak bleomisinin DNA üzerine etkisi ve CAPE'nin pürin katabolizması üzerine koruyucu etkisi gösterilmemiştir. Bu deneysel çalışmada, sıçanlara intratrakeal BLM uygulayarak akciğer fibrozisi oluşturup DNA hasarına olan etkisini pürin katabolizması enzim aktivitelerini tespit ederek göstermeyi planladık. Ayrıca antioksidan bir madde olan CAPE ve E vitamininin bu hasar üzerindeki düzeltici etkisini göstermeyi ve bu iki antioksidan ajanı birbirleri ile karşılaştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Sprague Dawley tipi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney gününe kadar havalandırması olan ve gün ışığı alan (12 saat gece 12 saat gündüz) odalarda özel kafeslerde tutulan sıçanlara ad libitum standart pellet yem ve çeşme suyu verildi. BLM uygulamasından bir gün önce, yemleri kesilen sıçanların ağırlıkları tartıldı ve ağırlıkları 250 gr'ı geçen sıçanlar rasgele alınarak, kontrol grubunda 8, deney gruplarında 10'ar sıçan olacak şekilde gruplandırıldı. Sıçanlar tartıldıktan sonra ağırlıklarına göre xylazine (1 mg/kg) ile ketamin (0.5 ml/kg) karışımı intraperitoneal (ip) uygulama ile genel anestezi yapıldı.

Grup-1: Kontrol grubu (n=8); BLM uygulanmasından iki gün önce %10'luk etil alkol ip olarak 1x1 (günde bir kez) uygulandı. CAPE'nin etil alkolde çözünmüş olmasından dolayı etil alkol verilmiştir. 0. (sıfırıncı) gün ise intratrakeal (it) olarak BPS (Buffer Phosphat Saline) (bleomisinin, BPS'de çözündüğünden dolayı) verilmiştir.

Grup-2: BLM grubu (n=9): 0. gün it olarak BLM enjekte edildi. 7.5 ü/kg BLM (Bleocin; bleomycin hydrochlorid; Nippon Kayaku CO., Ltd., Tokyo, Japonya) 250 µl BPS içinde çözülerek verildi.

Grup-3: BLM+E vitamini grubu (n=9): BLM uygulamasından iki gün önce E vit (Epynal-ROCHE) 10 mg/kg dozda 1x1 olarak verildi, 0. gün it olarak BLM verildi (7.5 U/kg, 250µl BPS içinde)

Grup-4: BLM+CAPE grubu (n=10): BLM uygulanmasından iki gün önce 10µmol/ml' lik CAPE' den 10 µmol/kg verildi. BLM ise it olarak 0. gün 7.5 U/ kg verildi.

BLM uygulanmasından 14 gün sonra genel anestezi altında göğüs boşlukları orta hat boyunca açılarak akciğer dokuları doku bütünlüğü korunarak çıkartıldı. Dokular hemen sıvı azot tankı ile donduruldu ve deney gününe kadar -85 °C de derin dondurucuda (Nuair -85 °C Ultralow Freezer, Japonya) saklandı. Biyokimyasal parametreleri çalışmak üzere derin dondurucudan çıkartılan akciğer dokuları, yaş doku ağırlıkları tartıldı ve küçük parçalara bölünerek cam tüplere konuldu. Üzerine Tris-HCl tamponu eklenerek homojenizatör (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) ile 16000 devir/dk hızda üç dakika süre ile dokular homojenize edildi. Elde edilen homojenat 5000xg' de bir saat santrifüjde çevrilerek dokuların süpernatantları elde edildi. Tüm analiz işlemleri boyunca numune örnekleri +4 °C muhafaza edildi. Akciğer dokularında ksantin oksidaz (XO) (15), adenozin deaminaz (ADA) (16) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (17) enzimleri çalışıldı.

İstatistikler Windows 95-98 uyumlu SPSS® programı yardımı ile yapıldı. Grupların dağılımına Non-parametrik testlerden one-sample Kolmogorov-Smirnov Test ile bakıldı. Dört Grupta da yer alan tüm sonuçlar normal dağılım gösterdiğinden Parametrik testlerden one-way ANOVA testi uygulandı, Post Hoc testlerden LSD (Least significant difference) ile gruplar arası anlamlılık incelendi. İstatistiksel anlamlılık için p<0.05 olan değerler anlamlı olarak kabul edildi. Değerler ortalama ± ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verildi.

BULGULAR

Sonuçlar Tablo-1'de kısaca özetlenmiştir. Antioksidan bir enzim olan GSH-Px enzim aktivitesi BLM verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (p=0.0001). CAPE daha etkin olmak üzere E-vit ve CAPE, GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir artmaya sebep oldu (p=0.0001). BLM grubunda XO ve ADA enzimleri anlamlı şekilde yüksekti (sırası ile p=0.003 ve p=0.0001). CAPE ve E-vit ise BLM grubundaki bu yükselmeyi önemli ölçüde düşürerek kontrol grubu seviyesine düşürmüştür.

Tablo 1. Deney gruplarında akciğer dokusu XO, ADA ve GSH-Px enzim aktiviteleri. Sonuçlar ortalama \pm ortalamanın standart hatası (SEM) olarak verilmiştir.

	XO (U/g protein)	ADA (U/g protein)	GSH-Px (U/g protein)
I- Kontrol (n=8)	0.163 \pm 0.018	1.128 \pm 0.075	6.29 \pm 0.58
II- BLM (n=9)	0.223 \pm 0.06	2.094 \pm 0.150	2.33 \pm 0.57
III- BLM+E Vit (n=9)	0.099 \pm 0.18	1.938 \pm 0.390	5.04 \pm 1.27
IV- BLM+CAPE (n=10)	0.172 \pm 0.048	1.420 \pm 0.100	5.23 \pm 0.48
P değerleri			
I-II	0.003	0.0001	0.0001
I-III	0.002	0.0001	0.002
I-IV	A.D.	A.D.	0.005
II-III	0.0001	A.D.	0.0001
II-IV	0.008	0.0001	0.0001
III-IV	0.0001	0.0001	A.D.

AD: anlamlı değil, **n:** gruplardaki sıçan sayısı, **XO:** ksantin oksidaz, **ADA:** adenosin deaminaz, **GSH-Px:** glutatyon peroksidaz, **BLM:** bleomisin, **CAPE:** kafeik asit fenetil ester, **E-vit:** E vitamini.

TARTIŞMA

Bleomisin'in direkt olarak trakea içine uygulanması bu deneysel çalışmada, deney süresinin sonunda, akciğer fibrozisinin beklenen klinik belirtilerinin hemen hepsi gözlemlendi. Sadece BLM verilen grupta (grup II), sıçanların göğüs boşluğu açıldığında çıplak gözle bile görülebilen diffüz tipte fibrotik değişiklikler izlendi. Yine bu gruptaki sıçanlar 7. günden itibaren 14. güne doğru daha da artmış olarak zayıflamaya ve hırıltılı solunuma başladılar. Zamanla solunum sırasında sıçanların burun kanatları solunuma katılmaya başladı ve interkostal çekilmeleri mevcuttu.

İştahları zamanla azaldı. Deneyin başladığı günlere göre günlük yem ve su tüketimi azalmaya başladı. Son günlere doğru özellikle BLM grubunda daha fazla olmak üzere bazıların burunlarında muhtemelen hemoptiziye bağlı kanamalar görüldü. Bu klinik bulgular E-vit grubunda daha hafif seyirli idi. CAPE grubunda ise kontrol grubu ile hemen hemen aynı klinik tablo mevcuttu.

Rahman ve ark. akciğerin antioksidan savunmasında Glutatyonun (GSH) kritik bir öneme sahip olduğunu ve özellikle hava yolları epitelinin oksidan hasardan ve inflamasyondan korunmasında esansiyel olduğunu savunmuşlardır (18). GSH'nin redoks durumundaki dengesizlikler, inflamatuvar akciğer hastalıklarında proinflamatuvar genlerin transkripsiyonuna yol açmaktadır (19). Dolayısıyla CAPE'nin GSH-Px enzim aktivitesini indirekt yoldan artırmak için verilmesi mantıklı bir girişim olabilir. Çünkü bu bileşik GSH'nin sentezine ve redüklenmesine katkıda bulunarak GSH-Px enzim aktivitesini artırabileceği düşüncesindeyiz.

Bleomisinle oluşturulan fibrozis üzerine oral erdostein'in etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada BLM verilen sıçanların akciğer dokularında antioksidan enzimlerden superoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz enzim aktivitelerini yüksek olduğu bulunmuştur.

Akciğer fibrozisi üzerine CAPE'nin etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada bleomisin verilen grupta SOD ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinde kontrol gruplarına göre azalma tespit edilmiştir.

Yine her iki çalışmada da BLM verilen sıçanların akciğer dokularında serbest oksijen radikallerine bağlı lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) ve dokudaki fibrozisin direkt göstergesi olan hidroksiprolin seviyeleri artmış olarak bulunmuştur (14,20).

Bizim bu çalışmamızda da BLM uygulanan grupta GSH-Px enzim aktivitesini daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak düşmüş olarak bulduk (p=0.0001). Bu azalmanın sebebi, BLM'nin direkt olarak enzimlerin protein yapılarının üzerine etkisi sonucu veya indirekt bazı mekanizmaları harekete geçirmesi ile meydana gelmiş olabilir. Örneğin BLM akciğer dokusunda aşırı düzeyde birikerek ROS üretimini arttırdığında, bu antioksidan enzimler bu oksidatif stresi giderebilmek için aşırı bir aktivite gösterip sonunda yıkılmış olabilirler. Anlaşıyor ki, antioksidan özellikteki CAPE ve E-vit serbest radikal süpürücü özelliklerinden dolayı GSH-Px aktivitesinin artmasına sebep olmuş (p=0.0001) ve kontrol grubu seviyesine yaklaştırmış olabilir.

Ksantin oksidaz, oksidaz (XO) ve dehidrogenaz (XDH) isoformları şeklinde bulunur (21). Çoğu dokularda NAD⁺-bağımlı dehidrogenaz enzimi baskındır fakat tiol grupları oksidasyona veya proteolize uğradığı zaman oksidaz formuna çevrilir (22). XDH-XO dönüşümü ve hipoksantin oluşumu reperfüzyon hasarını takiben organların yeniden oksijenlenmesi sonucu oksidatif hasarda meydana gelir (23). XO enzim seviyesinin yükselmesi Akut Respiratuvar Distres Sendromlu (24) hastaların plazmasında ve çoğu organların iskemi reperfüzyon hasarlarında gösterilmiştir (25-27). Daha önceki yapılan çalışmalara bakıldığında XO ve ADA enzim

aktivitelerindeki artışın muhtemel sebebi akciğerlerdeki hasarın bir sonucu olabilir (28,29).

BLM serbest radikal üreterek DNA hasarı oluşturduğundan (4,5) pürin bazları katabolizmasının bir göstergesi olan XO ve ADA enzim aktivitelerinde BLM verilen grupta anlamlı derecede artışa sebep olmuştur (sırasıyla; $p=0.003$; $p=0.0001$). CAPE antioksidan etkisi ile DNA' yı oksidatif hasardan koruyarak pürin bazlarının yıkımını azaltıp XO ve ADA enzim aktivitelerini kontrol grubu seviyesine yaklaştırmıştır.

Antioksidan madde olan CAPE ve E vitamini pürin katabolizmasını azaltarak olumlu yönde etki göstermiş ve hatta

KAYNAKLAR

- Ommaty R: Vademecum modern ilaç rehberi. 24. baskı, 2002.
- Sausville EA, Stein RW, Peisach J, Horwitz SB.: Properties and products of the degradation of DNA by bleomycin and iron(II). *Biochemistry*. 1978; 17: 2746-2754.
- Zitnik RJ.: Drug-induced lung disease: cancer chemotherapy agents. *J Respir Dis*. 1995; 16: 855-865.
- Cunningham ML, Ringrose PS, Lokesh BR.: Inhibition of the genotoxicity of bleomycin by superoxide dismutase. *Mutat Res* 1984; 135: 199-202.
- Sausville EA, Stein RW, Peisach J, Horwitz SB.: Properties and products of the degradation of DNA by bleomycin and iron(II). *Biochem* 1978; 17: 2746-2754.
- Amoros M, Lurton E, Boustie J, Girre L, Sauvager F, Cormier M.: Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-2-enyl caffeate. *J Nat Prod* 1994; 57:644-647
- Amoros M, Sauvager F, Girre L, Cormier M.: In vitro antiviral activity of propolis. *Apidologie* 1992; 23:231-240.
- Dobrowolski JW, Vohoraq SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC.: Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory, and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 1991; 35:77-82.
- Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Popov S.: Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivate. *Vaccine* 1992; 10: 817-823.
- Pascual C, Gonzales R, Torricella RG.: Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 1994; 41:9-13.
- Krol W, Czuba Z, Scheller S, Gabrys J, Grabiec S, Shani J.: Anti-oxidant property of etanolic extract of propolis (EEP) evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem Int* 1990; 21:593-597.
- Volpert R, Elstner EF.: Biochemical activities of propolis extracts: II. Photodynamic activities. *Z Naturforsch* 1993; 48:858-862.
- Edenharder R, von Petersdorff I, Rauscher R.: Antimutagenic effects of flavanoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino-3-methylimidazol (4,5-f) quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. *Mutat Res* 1993; 287:261-274.
- Ozyurt H, Sogut S, Yildirim Z ve ark.: Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. *Clin Chim Acta*. 2004; 339:65-75.
- CAPE ve E vitamini birbiri ile karşılaştırıldığında CAPE'nin daha etkili sonuçlara neden olduğu görülmüştür.
- Pulmoner fibroziste, E vit ve CAPE'nin ayrı ayrı kullanılması, çalışmamızın verilerinde görülen faydalı etkileri nedeni ile önerilebilir. Herhangi bir sebebe bağlı olarak gelişip başlangıç aşamasında yakalanan fibrozis vakalarında veya antikanserojen ajan olarak BLM kullanılacak hastalarda uygulama öncesinde profilaktik amaçlı CAPE verilmesinin, bu ilacın yan etkisi olarak gözlenen fibrozis oluşumunu kısmen önleyebileceğinden, yararlı olabileceği kanaatindeyiz.
- Sonuç olarak diyebiliriz ki, klinikte yaygın bir şekilde kullanılan BLM'nin, bu yan etkisini profilaktik olarak antioksidan kullanımı ile kısmen önenebilir.
- Prajda N, Weber G.: Malign transformation-linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas. *FEBS Lett* 1995; 59:245-249.
- Giusti G.: Adenosine deaminase. In: *Methods of Enzymatic Analysis* (Ed., Bergmeyer MV), pp 1092-1098, 2nd ed. New York: Academic Press, 1974.
- Paglia DE, Valentine WN.: Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med* 1967; 70:158-169.
- Rahman I, MacNee W.: Lung glutathione and oxidative stress: Implications in cigarette smoke-induced airways disease. *Am J Physiol* 1999; 277:1067-1088.
- Rahman I, MacNee W.: Regulation of redox glutathione levels and gene transcription in lung inflammation: therapeutic approaches. *Free Radical & Biology* 2000; 28:1405-1420.
- Sogut S, Ozyurt H, Armutcu F ve ark.: Erdosteine prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Eur J Pharmacol*. 2004; 494:213-220.
- Quinlan GJ, Lamb NJ, Tilley R, Evans TW, Gutteridge JM.: Plasma hypoxanthine levels in ARDS: implications for oxidative stress, morbidity, and mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 479-484.
- McCord JM.: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
- Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA.: Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand* 1986; 548(Suppl.): 47-63.
- Grum CM, Ragsdale RA, Ketai LH, Simon RH.: Plasma xanthine oxidase activity in patients with adult respiratory distress syndrome. *J Crit Care* 1987; 2: 22-26.
- Ozyurt H, Irmak MK, Akyol O, Sogut S. Caffeic acid phenethyl ester changes the indices of oxidative stress in serum of rats with renal ischemia-reperfusion injury. *Cell Biochem Funct* 2001; 19: 259-263.
- Ilhan A, Koltuksuz U, Ozen S, Efan U, Ciralik H, Akyol O.: The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothor Surg* 1999; 16: 458-463.
- Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO ve ark.: The effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with alpha-tocopherol in rat kidneys. *Urol Res* 2001; 29: 190-193.

29. Yildirim Z, Hasanoglu HC, Akyol O, Gokirmak M, Koksak N.: Serum adenosine deaminase activities in lung cancer and mesothelioma. Clin Biochem 1999; 32: 283–285.
30. Akyol O, Gokbulut I, Koksak N, Akin H, Ozyurt H, Yildirim Z.: The activities of purine catabolizing enzymes in plasma and bronchial washing fluid in patients with lung cancer and pneumonia. Clin Biochem 2001; 34: 251–254.

Kabul Tarihi: 23.08.2006