

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Anabilim Dalı

MALİGN MEZOTELYOMA TANISINDA PLEVRA HİYALURONİK ASİT KONSANTRASYONUNUN ÖNEMİ

(DOKTORA TEZİ)
Arş. Gör. Meltem Özlen ÖZDEN

TEZ YÖNETİCİSİ
Yrd. Doç. Dr. Fatma Birgül IŞIK

DİCLE ÜNİVERSİTESİ MERKEZ KÜTÜPHANESİ	
Demirbaş No.	0038595
Tasnif No.	612.0182 820 1997

0038595

T. C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ KÜTÜPHANESİ	
Demirbaş No.	1997/195
Tasnif No.	

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	1
GİRİŞ ve AMAÇ.....	2
GENEL BİLGİLER.....	4
MATERYAL ve METOD.....	28
BULGULAR.....	34
SONUÇLAR.....	41
TARTIŞMA.....	45
ÖZET.....	50
SUMMARY.....	51
KAYNAKLAR.....	52

ÖNSÖZ

Yetişmemde büyük katkıları olan değerli Hocam, babam **Prof. Dr. Turhan ÖZDEN**'i rahmetle anıyorum.

Tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgmeyen danışman hocam Sayın **Yrd. Doç. Dr. Birgül IŞIK**'a, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Belkıs AYDINOL**'a, Nükleer Tıp Anabilim Dalına, Göğüs Hastalıkları Kliniğine, Halk Sağlığı kürsüsüne, çalışma arkadaşlarıma ve beni her zaman destekleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Meltem ÖZDEN
Diyarbakır-1997

GİRİŞ ve AMAÇ

Mezotelyal hücrelerin primer serözal tümörü olan malign mezotelyoma, asbeste maruz kalan kişilerde plevrada veya peritonda gelişebilir (1,2,3,4).

2. Dünya savaşı ve sonrasında endüstriyel gelişmelerden dolayı tüm dünyada ve daha sonra özellikle gelişmekte olan ülkelerde asbest kullanımının artmasına bağlı olarak artan malign mezotelyoma önemli bir sağlık sorunu teşkil etmektedir. Yazıcıoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda bölgemizde Diyarbakır'a bağlı Çermik, Çüngüş ve Ergani, Elazığ'a bağlı Maden ve Şanlıurfa'ya bağlı Siverek ilçelerinde asbestli toprağın (aksıva diye adlandırılan bir çeşit badana malzemesi) yöre halkı tarafından kullanıldığı tespit edilmiştir. Bu yörelerden alınan toprak numunelerinin incelenmesiyle, malign mezotelyoma etyolojisinde rol oynayan serpantin ve amfibol asbest lifleri ve talk ihtiva ettikleri belirlenmiştir. Bazı tedbirlerin alınması ve kirecin badana malzemesi olarak yöre halkı tarafından kullanılmasıyla nispeten asbeste bağlı riskler azalmıştır (5).

Hastalığın prognozu oldukça kötüdür. Klinik belirtileri göğüs ve sırt ağrısı, tekrarlayan sıvı toplanmaları ve hafif solunum yetmezliğini takiben öksürük, kilo kaybı ve ağır dispne gibi semptomlarla kendini gösterir. Semptomlar açığa çıktıktan çok sonra tanı konulabilmektedir (6). Erken tanıdaki zorluk, yaşam süresini de çok kısaltmaktadır. Tanıdan sonra ortalama yaşam süresi 7-13 aydır (7,8).

Günümüzde malign mezotelyomanın kesin tanısı halen histopatolojik bulgulara dayanmaktadır (4). Histolojik olarak sarkom tabiatında olmasına rağmen malign mezotelyoma, metastatik adenokarsinomlar gibi neoplazilerle sık sık karıştırılmaktadır (9,10,11,12,13).

Mezotelyoma olgularının plevra sıvılarında, müsin ve hiyaluronik asit (HA) saptanması araştırmacıları bu yönde çalışmaya sevk etmiştir.

Mezotelyal hücreler HA, kollajen, laminin ve elastin gibi bağ dokusu elemanlarını sentemezlekte ve plevra sıvısında konsantrasyonlarının artmasına neden olmaktadır (14,15).

HA, β (1-3) ve β (1-4) glikozitik bağlarıyla bağlanmış, D-glukuronik asit ve N-asetil D-glukozaminin tekrar eden disakkarit birimlerinden oluşmuş, dallanmamış bir polisakkarittir (3,16,17,18).

Malign mezotelyomalı hastaların plevra sıvılarındaki HA tespiti ilk olarak 45 yıl önce rapor edilmiştir (9). Daha sonraki yapılan çalışmalarda diğer kanser ve inflamasyon tiplerinde de tespit edilmiştir. Çok çeşitli nedenlerle oluşan plevra sıvıları arasından, malign mezotelyomaya bağlı olanların tanısını koymak oldukça güç ve bazen imkansız olmaktadır (2,3,19). Son yıllarda malign mezotelyomaya bağlı plevra sıvılarında, diğer etyolojili plevral sıvılara göre HA düzeylerinin ayırıcı tanıyı kesinleştirecek derecede yüksek bulunduğu bildirilmiştir (2, 4, 9, 10, 12, 13, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27).

Bu bilgilerin ışığında yöremizde de ağırlık teşkil etmekte olan malign mezotelyomanın ayırıcı tanısıyla, HA düzeylerinin önemini araştırmayı ayrıca, bu tayin metodunun laboratuvarımızda rutin kullanılmasını sağlamayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Akciğerler, göğüs boşluğunda birbirinden mediastinum ile ayrılmış sağ ve sol bir çift organdır. (28) Ağırlıkları şahsın yaşı, boyu, cinsiyeti ve beden yapısına göre değişmekle beraber sağ akciğer 625 gr., sol akciğer 560 gr. dır.

Yarım koni şeklinde olan bir akciğerin; bir tepesi, bir tabanı, iç ve dış yüzeyleri vardır. Konveks olan dış yüz (facies costalis) en geniş yüzdür ve kostaların iç yüzü ile temastadır. İç veya mediyastinal yüz (facies mediastinalis) hafif konkavdır. Akciğeri mediyastene bağlayan hilus bu yüzdedir. Akciğerin tabanı (facies diaphragmatica) konkavdır ve diyaframın konveks üst yüzü üzerine oturur.

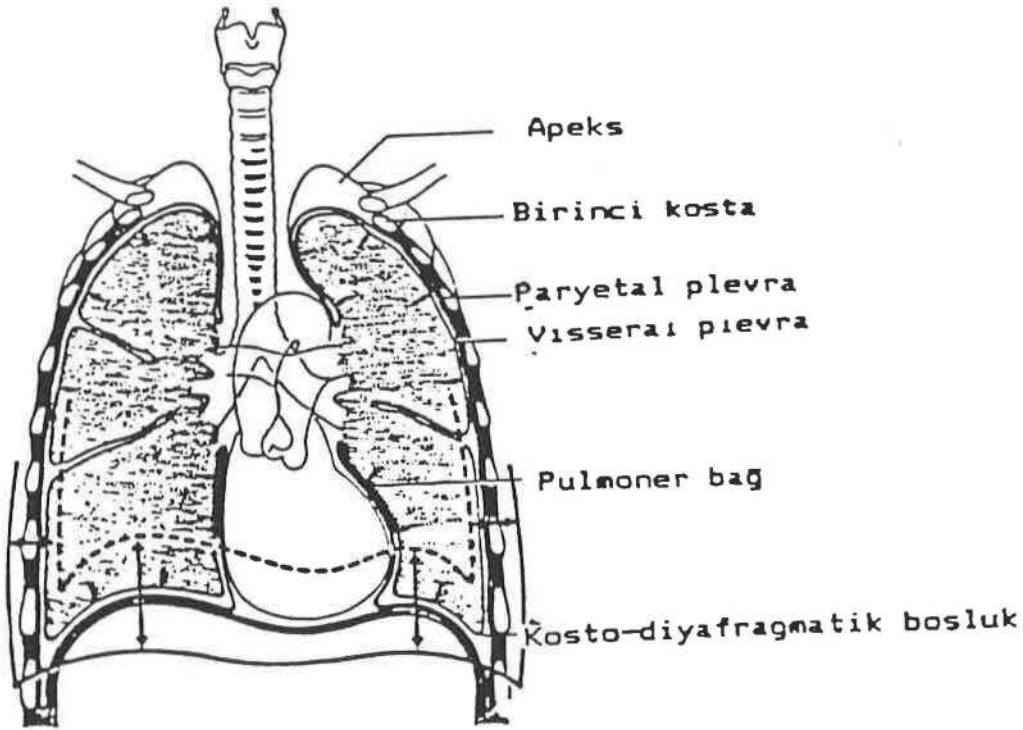
Sağ akciğerin altında karaciğerin yer alması nedeni ile sola doğru daha kısa fakat daha geniştir. Sol akciğer ise kalbin yerleşimi nedeni ile sağa göre daha ince fakat ondan daha uzundur.

Akciğerler fissür denen yarıklarla loblara ayrılır. Sağda iki, solda bir fissür vardır. Sağdaki iki fissür sağ akciğeri üç loba, soldaki tek fissür sol akciğeri iki loba ayırır. Loblar yalnız dış yüzeylerinde değil, birbirlerine temas eden iç yüzeylerinde de visseral plevra ile örtülüdürler.

Loblar, segmentlere ayrılır. Segmentler özel bronşu, arteri, veni olan akciğer üniteleridir. Segmentler yalnız anatomik değil, fonksiyonel birer ünitedirler. Her segment tepesi hilusa doğru yönelmiş ve tabanı akciğer yüzeyinde bir piramit şeklindedir. Arter ve bronşu tepesinden girer, dallanarak orta kısmında perifere doğru ilerlerler. Arter, alveoller hizasında kapiller ağa ayrılır. Kapiller ağdan başlayan venalar, segmentler arası bölgede hilusa ilerlerler. Bir segmentin venası komşu segmentlerden kan alabileceği gibi, aynı şekilde komşu

segmentin venalarına da gidebilir.

Lob ve segment ayrımında sağ ve sol akciğerler arasında fark vardır. Sağ akciğerin orta yerinde lingula bulunur. Fakat lingula ayrı bir lob değildir, sol üst lobun içerisinde bulunur (29). (Şekil-1).



Şekil-1: Göğüs ve Akciğerin Bölümleri (30)

Sağ akciğerde 10, sol akciğerde 9 esas bronkopulmoner segment ayırtdılır. Segmental bronşlar çapları gittikçe küçülerek birçok kez dallanırlar. Çapları 1 mm'den az ve duvarları kıkırdaktan yoksun olunc a broşiyol olarak tanımlanırlar. Bronşiyollerin duvarlarında kıkırdak ve bez bulunmaz. Epitel tek katlı prizmatik titrek tüylüdür. Bronşiyoller dallanıp incelmeyi sürdürürler. Solunum sisteminin gaz değişimi yapmaksızın sadece iletme yarayan, en küçük çaplı son dallarına terminal bronşiyoller denir (28). Terminal bronşiyollerin ilerisinde kalan kısmı, gaz alış verişinin meydana geldiği akciğer parankimi teşkil eder. Her terminal bronşiyol 2-3 respiratuar bronşiyole ayrılır (Kısalarak terminal bronşiyollerden ayrılan respirat-

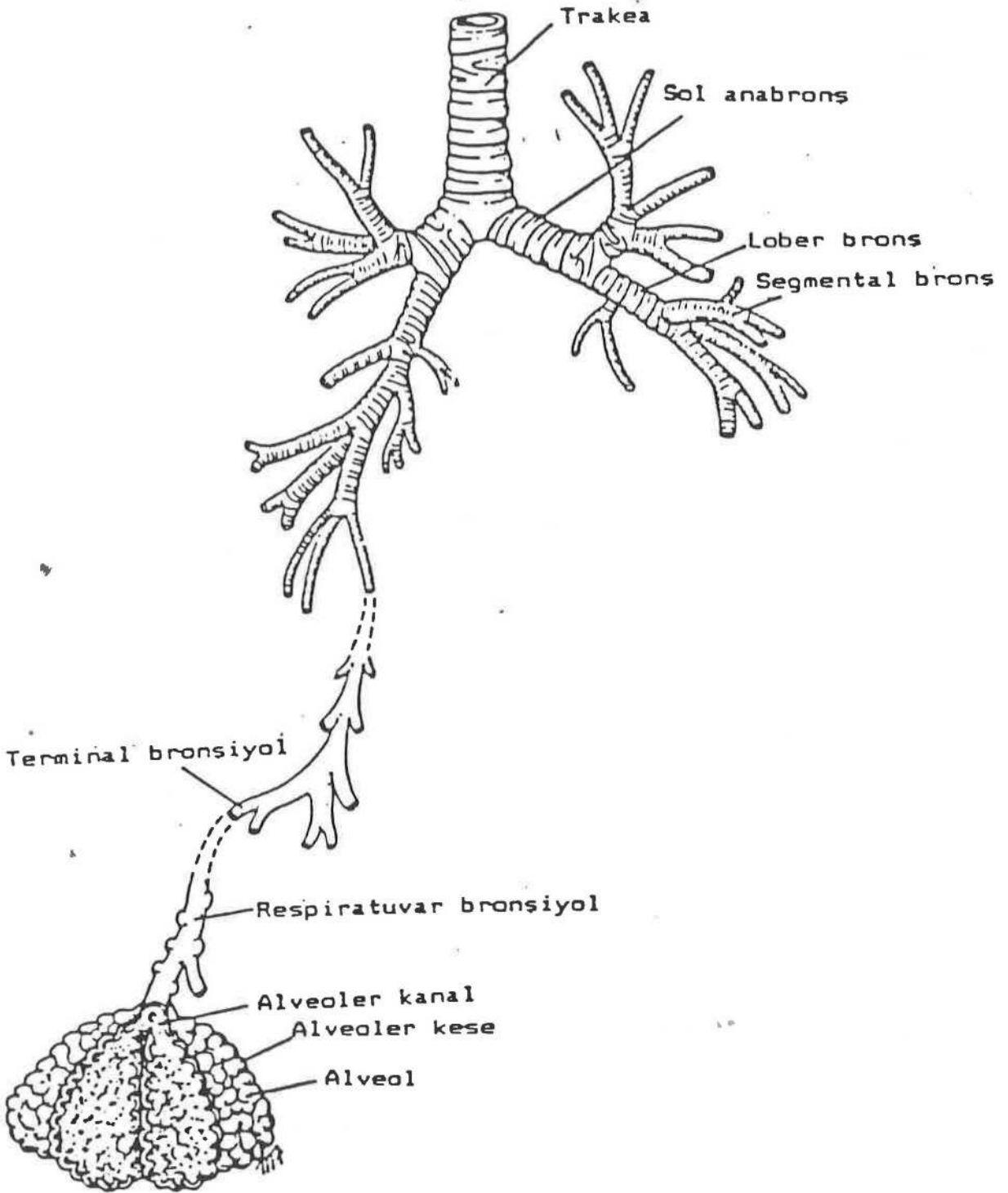
uar bronşiyollere birinci sıra, bunların dallanması ile meydana gelenlere ikinci sıra, ikinci sıranın da dallanması ile meydana gelenlere üçüncü sıra respiratuar bronşiyol denir). Bu bronşiyollerin içlerini örten epitel küboiddir, duvarlarında yer yer alveoller görülmeye başlar, Üçüncü sıra respiratuar bronşiyol iki veya daha fazla kanala (ductus alveolaris) ayrılır. Alveol kanallarından her biri 2-5 atriaya, her atriada 2-4 alveol keseciğine (sacculus alveolarise) ayrılır. Bu son oluşumların duvarlarını yanyana sıralanan, 0.075-0.2 mm çaplı alveoller oluşturur.

İki akciğerde ortalama 750 milyon kadar alveol vardır. Bunların meydana getirdiği solunum yüzeyi 55-100 m², ortalama 75 m² dir. Alveollerin iç yüzü alveol epiteli ile örtülüdür. Bu epitel iki tip hücreden meydana gelir. Bunlar;

a) Tip I alveol hücreleri: 0.1-0.2 mikron kalınlığında, gaz diffüzyonu için çok elverişli yassı hücrelerdir. Bu hücrelerin orjini trakea-bronşiyal ağacı döşeyen epitelle aynıdır. Yani endodermal orjinlidirler (29). Geniş fakat çok ince sitoplazmaları içinden hava ile kan arasında gaz değişimi olur (31).

b) Tip II alveol hücreleri: Tip I hücrelerden daha az, fakat daha büyüktür. Birçok mitokondri ihtiva eden geniş sitoplazmaları vardır. Mezodermal orjinlidirler ve antiatelektazik bir faktör olan sürfaktanı salgırlarlar.

Komşu alveoller arasında bunları birbirine bağlayan delikler vardır. Bu deliklere Kohn delikleri (Porus alveolaris) denir. Bu delikler küçük sahaların atelektazisine mani olurlar. Bu respiratuar bronşiyol tıkanmış zaman, porus alveolarisler aracılığıyla komşu alveollerden bronşiyolu tıkanan saha havalanabilir. Akciğerin pnömomik enflamasyonlarında bakteri içeren eksüdanın bu delikler aracılığı ile komşu alveollere geçmesi ve bu şekilde hastalığın yayılması mümkündür. (29). (Şekil -2).



Şekil -2: Akciğerler içinde bronşların dallanması (32).

PLEVRA SIVISI

Plevra, ince bir konnektif doku tabakası ve bunu örten tek katlı mezotel hücrelerinden yapılmıştır. Göğüs kafesinin kostovertebral kısmının iç yüzünü örten plevraya paryetal plevra, loblar arasına da girerek akciğerin dış yüzünü örten plevraya visseral plevra denir (29).

Paryetal plevra, mamma interna ve interkostal arterlerden kan alır ve venöz kanını da azygos ven ile anonim vene verir. Visseral plevra ise, büyük dolaşımdan bronşiyal arterlerden gelen kapillerler yoluyla kanlanır, venöz kanını da pulmonel venlere döker (33).

Paryetal plevra sistematik dolaşımdan damarlandığı için, kapillerin ortalama hidrostatik basıncı nisbeten yüksektir (30 cm H₂O). Visseral plevra pulmoner arterle kanlandığından daha düşük hidrostatik basınca sahiptir (11 cm H₂O). Bu hidrostatik basınç farkı nedeni ile normal plevra sıvısı paryetal plevra kapillerinin arteriyel kısmından filtre olur ve bu sıvının büyük bir kısmı visseral plevranın ince konnektif dokusunda bulunan akciğer dolaşımı ile özellikle lenfatikleri tarafından reabsorbe edilir (29). Bu basınçlar arasındaki etkileşimler Starling yasasıyla düzenlenmiştir. Bu yasaya göre (34).

$$F = [K (P_c - P_{pI}) - (\Pi_c - \Pi_{pI})]$$

F = Kapillerde plevra boşluğa sıvı hareketi.

K = Filtrasyon katsayısı

P_c = Kapiller hidrostatik basıncı

P_{pI} = Intraplevral basınç

Π_c = Plazma onkotik basıncı

Π_{pI} = Plevral sıvının onkotik basıncı

P_c-P_{pI} = Hidrostatik basınç gradienti

Π_c-Π_{pI} = Onkotik basınç gradienti

Plevranın paryetal bölüm kapillerinde hidrostatik basınç 30 cm H₂O, plevral basınç ise -5 cm H₂O'dur. Yukardaki denklemde bu değerleri yerine koyarsak, oluşan hidrostatik basınç farkı:

$$30 \text{ cm H}_2\text{O} - (-5 \text{ cm H}_2\text{O}) = 35 \text{ cm H}_2\text{O'dur.}$$

Bu nedenle 35 cm H₂O basınçla sıvı paryetal plevranın kapillerinden plevral boşluğa doğru hareket eder. Bunun yanında plazmada var olan onkotik basınç, bu akıma ters bir etkileşime neden olur. Plazmada onkotik basınç 34 cm H₂O'dur. Ayrıca plevral boşlukta mevcut çok az miktar protein içeriği nedeniyle 5 cm H₂O kadar onkotik basınç mevcuttur. İkisi arasındaki fark:

$$34 \text{ cm H}_2\text{O} - 5 \text{ cm H}_2\text{O} = 29 \text{ cm H}_2\text{O'dur.}$$

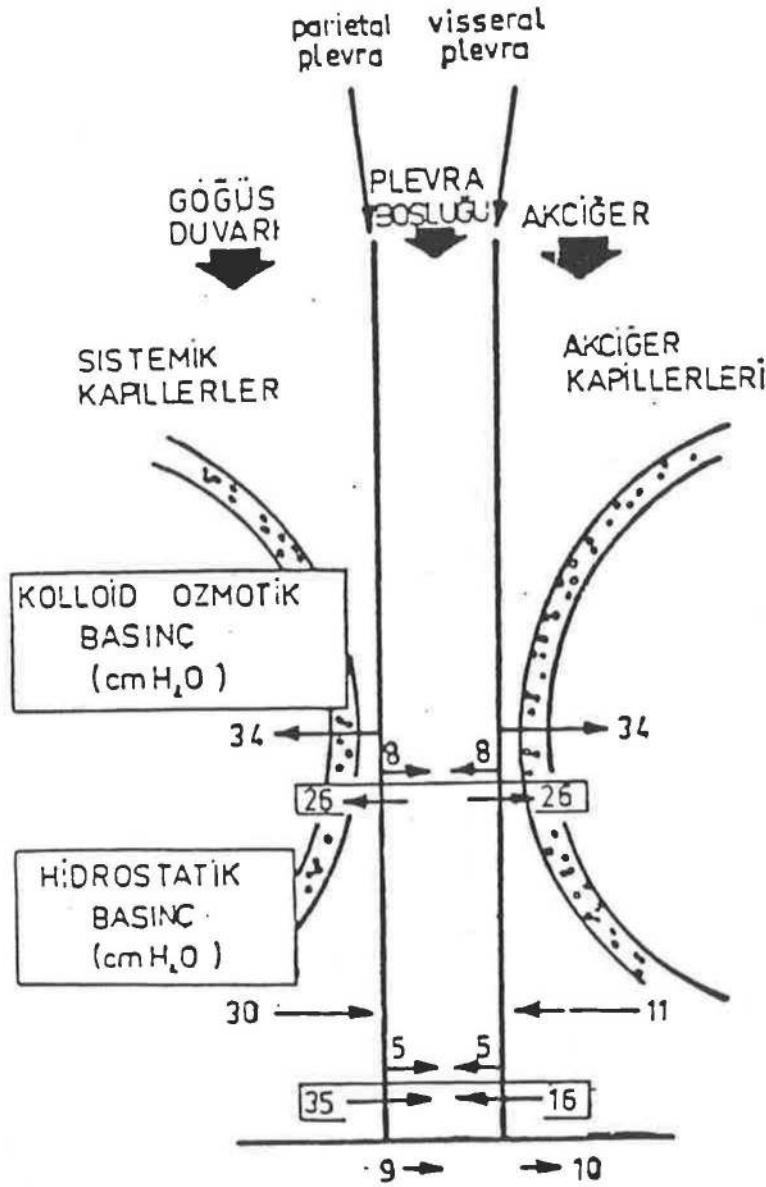
Yani sonuç olarak paryetal kapillerden, 35 cm H₂O - 29 cm H₂O = 6 cm H₂O'luk bir basınç farkı ile kapillerden plevral boşluğa sıvı geçişi olur.

Olaya visseral plevra yönünden bakarsak: Burada kapiller hidrostatik basınç 11 cm H₂O'dur. Bu basınçla aynı yönde hareket eden plevral basınç 5 cm H₂O göz önüne alınırsa visseral plevranın hidrostatik basınç farkı:

$$11 \text{ cm H}_2\text{O} - (-5 \text{ cm H}_2\text{O}) = 16 \text{ cm H}_2\text{O'dur.}$$

Bu bölümdeki onkotik plazma basıncı sabittir. Yani paryetal plevrada olduğu gibi 29 cm H₂O'dur. Bu kesimde sıvı hareketi için net gradient, 16 cm H₂O-29 cm H₂O=-13 cm H₂O'dur. -13 cm H₂O'luk basınçla sıvı plevral boşluktan visseral plevradaki kapillere hareket eder (34).

Bu olayı aşağıdaki şekilde özetleyebiliriz. (Şekil -3)



Şekil 1-3: Plevrada sıvı oluşumu ve absorpsiyonunun şematik açıklanması. Sıvı paryetal plevranın sistematik kapillerinden hidrostatik (35) ve kolloid ozmotik (36) basınçlar arasındaki 9 cm H_2O basınç farkı ile plevra boşluğuna geçer. Diğer taraftan, visseral plevranın pulmoner arter kapillerinden kolloid ozmotik (36) ve hidrostatik (37) basınçlar arasındaki 10 cm H_2O basınç farkı ile absorbe edilir.

Plevra boşluğunda solunum hareketleri esnasında visseral ve paryetal plevra yapraklarının birbirini üzerinde kolayca kaymasını temin eden 10-15 cc kadar sıvı bulunur (29).

Plevral effüzyon, plevra boşluğunda sıvının anormal toplanmasıdır. Hem sistemik, hem de intratorasik hastalıkların yaygın bir belirtisidir.

Sistemik veya pulmoner venöz kapillerdeki hidrostatik basıncın artışı, özellikle kardiak, renal veya aşırı volüm durumlarında plevral effüzyon oluşmasında major rol oynar. Bunun yanında plazma onkotik basıncında azalma plevral sıvı birikimine zemin hazırlar.

Plöreziye aşağıdaki faktörlerin biri veya daha fazlası olumsuz yönde etkilenerek plevral sıvının oluşmasına neden olur.

1- Plevral lenfatik drenajın fonksiyonu

2- Plevral hemodinamik

3- Plazma veya plevral onkotik basınç

4- Kapiller geçirgenlik

5- Etkin visseral veya paryetal plevral kapiller yüzey alanını değiştirebilen herhangi bir olay (34).

Plevra sıvıları karakterine göre 2 şekilde sınıflandırılabilir.

1- Transuda

2- Eksuda

Transüdalar, kapiller hidrostatik basınç ve kolloid osmotik basınç arasındaki dengenin bozulması ile meydana gelir.

Eksüdalar ise, enfeksiyon, infarkt veya neoplazilerle oluşan inflamatuvar değişiklikler sonucu membran permeabilesinin bozulması ile meydana gelir (38). Bu sıvıların özellikleri ve etyolojileri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo-1) (29).

Tablo-1: Plevra Sıvılarının Özellikleri ve Etyolojileri.

Plevra sıvısı	Özellikleri	Etyoloji
Transuda	Protein < %2.5-3 gr. Dansite < 1016-1018 Renk: Berrak, açık sarı	1- Konjestif kalp yetmezliği (akciğer enfarktüsü meydana gelirse eksüda olur.) 2- Siroz 3- Nefrotik Sendrom
Eksüda	Protein > % 3 gr. Dansite > 1018 Renk: Saman Sarısı	1- Primer veya metastatik plevra tümörü (ekseriya hemorajik olur.) 2- Tüberküloz plörezisi 3- Para pnömonik steril sıvı toplanması 4- Viral 5- Akciğer enfarktüsü (serohemorajik olabilir) 6- Romatoid artrit, periarteritis nódosa gibi sistemik hastalıklar.
Ayrıca aşağıdaki üç kriterden biri bulunduğu takdirde plevra sıvısı büyük olasılıkla eksüdadır:		
1. <u>Plevra sıvısı proteini</u> > 0.5 Serum proteini		
2. Plevra sıvısında LDH > 200 IU.		
3. <u>Plevra sıvısında LDH</u> > 0.6 Serumda LDH		
Ampiyem	Renk: Bulanık veya cerrahat renginde	Ampiyem bahsinde anlatılan etyolojik faktörler. Kısaca: 1- Tüberküloz 2- Bakteriyel pnömoni komplikasyonu 3- Akciğer absesi ve bronşektazi

Tablo-1'in devamı

		4- Diyafragma altı absesi veya karaciğer absesinin plevra boşluğuna açılması
		5- Nadiren septik akciğer enfarktüsü
		6- Çok nadiren mantar enfeksiyonları
Sero hemorajik veya hemorajik		1- Plevranın primer veya metastatik tümörü
		2- Akciğer enfarktüsü
		3- Tüberküloz (hafif hemorajik olabilir).
Çikolata renginde		1- Karaciğer amip absesinin plevraya açılması
		2- Malign plevra tümörlerinin fazla kanlı sıvıları bazan çikolata renginde olabilir.
Şilotoraks (çok nadir)	Süt renginde	Ductus thoracicusun travma ve tümör ile veya ameliyat esnasında tahribi
	1- Total lipitler	
	2- Nötral yağlar artmış	
	3- Kolesterol az	
Psödoşilotoraks	Sulandırılmış süt renginde	Çeşitli kronik epanşmanlar
	1- Total lipitler artmış	
	2- Kolesterol artmış	
	3- Nötral yağlar az	

TÜBERKÜLOZ PLÖREZİSİ

Memleketimizde sero-fibrinöz plörezilerin en sık nedeni tüberkülozdur. Primer enfeksiyondan çok sonra bazen erişkin tipi bir akciğer tüberkülozunun seyri esnasında da ortaya çıkabilir. 5 yaşından evvel nadirdir. Orta ve ileri yaşlarda görülse de en sık olarak 15-30 yaşlar arasında rastlanır (29).

Plevral mayinin incelenmesi, tüberküloz tanısını koydurmaya yardım eder. Tüberküloz effüzyonlarında mayinin total protein miktarı 5 gr/dl'nin üzerindedir. Aynı zamanda glukoz konsantrasyonu 60 mg/dl'nin üzerindedir. Buna karşılık plevral mayinin pH değeri tanıda çok az değerlidir. Hastaların % 50'sinde plevral mayinin içerisinde lenfosit bulunur (38).

MEZOTELYOMA

Akciğer zarı kanseridir. Büyük oranda asbest partiküllerinin bulunduğu havayı soluyanlarda yıllar sonra görülür (38).

Plevral malign effüzyonlar ya plevranın primer tümörü (mesotelioma) ya da plevraya metastaz sonucu gelişir.

Mezotelyomada plevral mayinin karakteri genellikle hemorajiktir. Lenfositler, makrofajlar ve mezotel hücreler ihtiva eder. Protein miktarı yaklaşık 4-5 gr/dl'dir. Bununla birlikte 1.5-8 gr/dl oranında değişebilir. Malign plörezilerinin 1/3'ünde mayinin pH'si 7.30'dan düşük, glukoz konsantrasyonu 60 mg/dl'nin altındadır.

AKCİĞER KANSERİ

Akciğer kanserlerinin makroskopik görünüşü ve yayılma niteliği değişiklikler gösterir. Malign akciğer kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturan önemli kanser türleri şunlardır (39):

- Yassı epitel hücreli karsinoma veya epidermoid karsinoma: Tüm akciğer kanserlerinin % 42'sini kapsamaktadır. Akciğer kanserlerine göre daha ziyade büyük bronşlardan menşeyini alır ve ileri yaşlarda görülür. Gelişmesi diğer tiplere göre daha yavaştır. Histolojik olarak yassı epitele ben-

zer. Hücrelerin konsantrik şekilde dizilmesiyle meydana gelir (40).

- Küçük hücreli anaplastik karsinoma: İkinci derecede sık görülen tip-
tir (% 20-30). Hücreler küçük olup yoğun olarak bir arada bulunurlar. Sar-
koma ve lenfomaya benzeyen bu küçük hücreler fuziform, poligonal veya
lenfoid tiplerde olabilir (41).

- Adenokarsinoma: Görülme sıklığı % 7-27 arasında değişir. Adenokar-
sinomaların 3/4'ü akciğer periferinde bulunur. Bu tümörün küboid ve silin-
dir hücreleri glandüler bir görünüm oluşturur (41).

- Büyük hücreli karsinoma: Bunlar, hiçbir tipe sokulmayan bronş kan-
seri tipleridir. Görülme oranları çok düşüktür (% 1-3). Büyük hücreli tü-
mörlerin hücre yapısı, öncelikle ikinci derece veya küçük bronşlarda oluş-
ması, yayılım niteliği genellikle adenokarsinoma benzer (41, 42).

- Miks epidermoid karsinoma ve adenokarsinoma: Bronş kanserlerinin
yaklaşık % 6'sında görülür. Hem epidermoid karsinoma hem de adenokar-
sinom karakteristik özelliklerini taşıyan tümör tipidir. Epidermoid hücre-
ler arasında müsin ifraz eden hücrelerden yapılmış halkalar bulunur.

KONJESTİF KALP YETMEZLİĞİ

Kalbin kendisine dönen kanı ileriye doğru nakledememesi konjestif
kalp yetmezliğine (KKY) neden olur. Sağ kalp yetmezliğinde kan venöz kıs-
mında toplanırken, sol kalp yetmezliğinde akciğerlerde toplanır. Total yet-
mezliklerde her iki bulguda birlikte dir. Sağ kalp yetersizliğinde kalp geri-
sinde biriken kan venler içerisinde hidrostatik basıncı arttırarak değişik
vücut bölümlerinde ödeme yol açar. Periferik ödem ön planda olup alt ekst-
remite veya yatalak olanlarda sırtta ve kalçalarda yerleşir. Sol kalp yeter-
sizliğinde ise pulmoner semptomlar dispne, öksürük, kanlı balgam gibi bul-
gular vardır. Su ve tuz tutulumunun artışı ve hafif proteinüride bu meka-
nizmayı kamçılayan durumlardır.

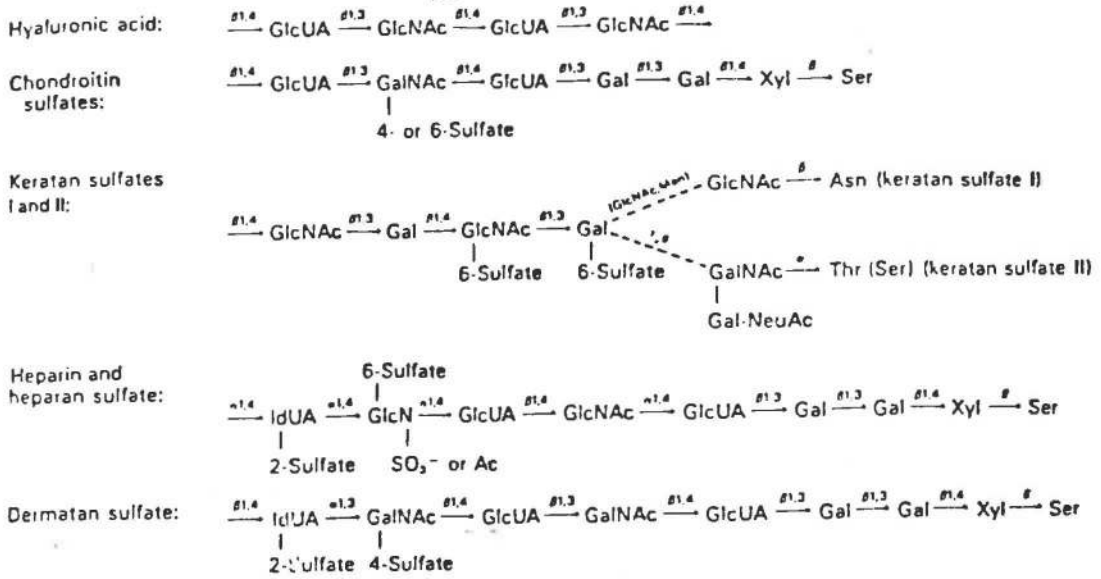
Plevral aralıkta, epanşman hem sağ hem de sol kalp yetmezliğinde gö-
rülebilir. Buradan alınan ponksiyon sıvısı oldukça berrak ve kısmen prote-
inden fakir olduğu için transuda karakterindedir (43, 44).

GLİKOZ AMİNOGLİKANLAR (GAG) (45, 46, 47, 48)

GAG'lar tekrarlayan disakkarit üniteleri taşıyan heteropolisakkaritlerdir. Yapılarında özgülleşmiş türev monosakkaritleri ve sülfatlararak türevin türevi olmuş monosakkaritleri içerirler. Bunlar glukuronik asit (Glc-UA), iduronik asit (IdUA), N-asetil galaktoz amin (Glc-NAC) veya N-asetil glukozamin (Glc-NAC) sülfatlı bileşiklerdir. GAG'ların yapılarına ait bilgiler aşağıdaki Tablo-2 ve Şekil-4'te özetlenerek verilmiştir.

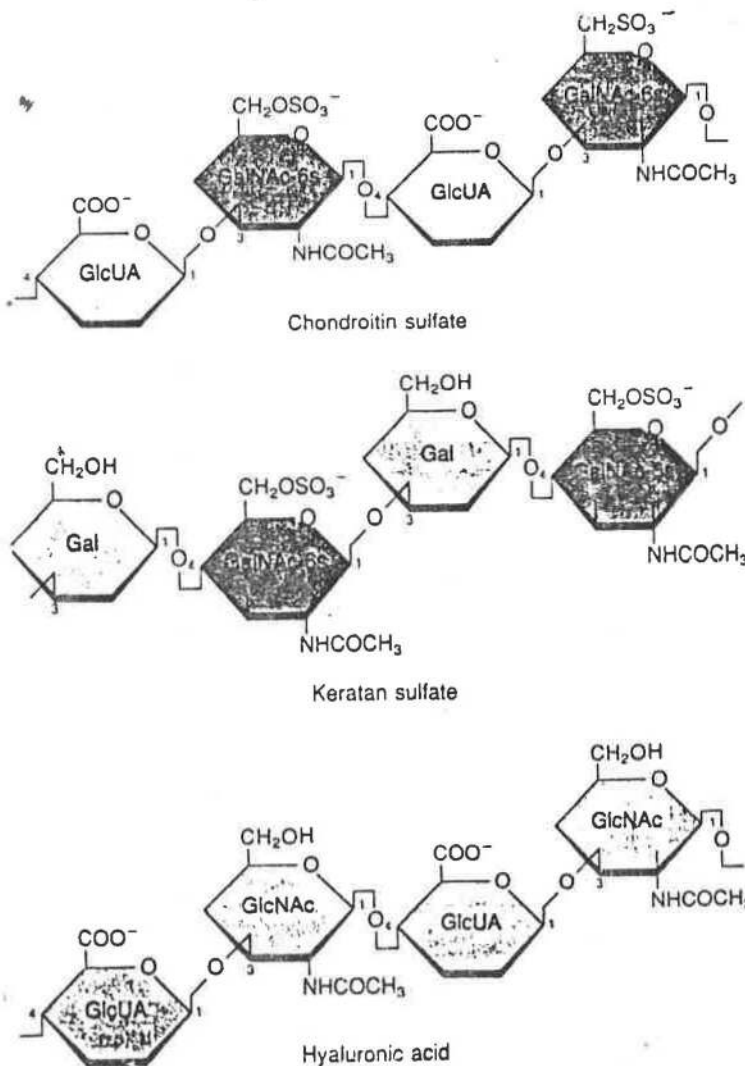
Tablo-2 Glikozaminoglikonların bileşimi, özellikleri ve Dağılımı

GAG (Molekül Ağırlığı)	Amino Şeker	Üronik Asit	Sülfata Bağlanma Şekli	Dokulara Dağılımı
Hiyaluronat ($4-80 \times 10^6$)	D-Glukozamin	D-Glukuronat	Hiçbiri	Bağ dokusu, kıkırdak, eklem sıvısı, camsı cisim, Göbek kordunu
Kondroitin Sülfat (5000-50000)	D-Galaktozamin	D-Glukuronat	Galaktozaminde 4. veya 6. Karbon	Kıkırdak, kemik, deri, kornea, kan damarı duvarı
Dermatan Sülfat (15000-40000)	D-Galaktozamin	L-İduronat D-Glukuronat	Galaktozaminde 4. Karbon; iduronat da 2. karbon	Deri, kalp kapakçığı, tendon, kan damar duvarı
Keratan Sülfat (4000-19000)	D-Glukozamin	D-Galaktoz	Her iki karbonhidratta 6. Karbon	Kıkırdak kornea, İntervertebral disk
Heparan sülfat ($10^4 - 10^5$)	D-Glukozamin	D-Glukuronat (major) L-İduronat (minor)	Glukozaminde 6. Karbon; İduronat da 2. Karbon	Akciğer, kan damar duvarı birçok hücre yüzeyi
Heparin (10^3-10^6)	D-Glukozamin	L-İduronat (major) D-Glukuronat (minor)	İduronat da 2. Karbon Glukozaminde 6. Karbon	Akciğer, karaciğer, deri, intestinal mukoza (mast hücreler)



Şekil: 4- GAG'ların yapıları.

Proteinlere bağlanma yeri olarak sonlarında Gal-Gal-Ksiloz yapısı mevcuttur. 100-1000 disakkarit birimi düz zincir halinde biraraya gele-



Şekil: 5- Tekrarlayan bazı GAG yapıları.

rek dallanmamış yapıyı oluşturur. GAG'larda disakkarit üniteleri aminoşekerlerden ve genellikle D-galaktozamin-den oluşmuştur. Keratan sülfat ise uronik asit içerir. Hiyaluronik asit hariç hepsi O-sülfat bileşikleri içerir ve hepsi proteinle kovalent bağlar yapabilir (Şekil-5).

GAG'lar polianyonik olduklarından Na^+ ve K^+ gibi katyon ve polikasyonları bağlarlar. Bu özellik ozmotik basınç aracılığı ile ekstrasellüler matrikste suyun çekilmesine ve ortamın turgorunun sağlanmasına katkıda

bulunur. GAG'lar jel formunda büyük moleküllerin geçişini kısıtlayan, ancak ufak moleküllerin diffüzyonuna mücadele eden bir süzgeç vazifesi görürler. Hücre migrasyonunda (hiyaluronik asit) ağırlık taşınmasında, kartilajın sıkışabilmesinde (hiyaluronik asit, kondroitin sülfat), korneal transparanlıkta (keratan sülfat , dermatan sülfat), sklerada yapısal rol oynarlar.

Hiyaluronik asit, tümör hücrelerinin ekstrasellüler matrikse migrasyonunda önemli rol alır. Tümör hücreleri GAG'ların sentezini arttırmak için fibroblastları uyabilmektedir.

Dermatan sülfat, plazmanın düşük dansiteli lipoproteinlerini bağlar. Aterosklerotik plağın oluşumunda önemli rol oynar.

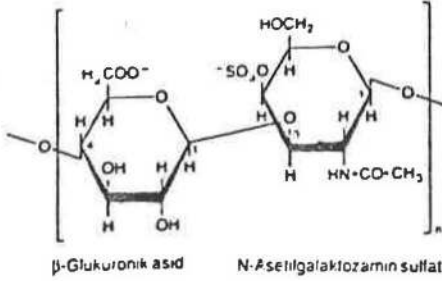
GAG yıkımı sırasında veya metabolizmasındaki bir kademede lizozomal enzimlerdeki bir eksiklik sonucu bunların substratı olan GAG'lar birikir. Kalıtsal enzim eksikliği sonucu GAG'ların yıkılmaması (mukopolisakkarit) ile gelişen hastalık tablolarına mukopolisakkaridozlar denir. Olayın şiddetine göre organlarda büyüme, kemik yapıda bozulma, cilt ve diğer dokular ile ilgili bozukluklar ve zeka geriliği görülebilir. Mukopolisakkaridozlar ile ilgili bilgiler aşağıdaki Tablo-3'te verilmiştir.

Tablo:3- Mukopolisakkaridozlar, mukolipidozlar ve ilişkili bozukluklarda biyokimyasal kusurlar ve diagnostik testler.

İsim	Değişik İsimleme	Enzimatik Kusur	Üriner Metabolitler
Mukopolisakkaridozlar Huzler, Scheie, Hurler/Scheie	MPS I	α Liduronidaz	DS, HS
Hunter	MPS II	Iduronat Sulfataz	DS, HS
Sanfilippo A	MPS III A	HS N-Sulfataz (sulfamidaz)	HS (+)
Sanfilippo B	MPS III B	α - N- asetil glukozaminidaz	HS
Sanfilippo C	MPS III C	Asetiltransferaz	HS
Morquio	MPS IV	N-asetil galaktozamin 6-sulfataz	KS
Morquio-benzeri	Hiçbiri	β -galaktozidoz	KS
Morateaux-Lamy	MPS VI	N asetil galaktozamin 4-sulfataz (aril sulfataz B)	DS
β -glukoronidaz yetm.	MPS VII	β -glukuronidaz	DS, HS (+)
İsilenmemiş bozukluk	MPS VIII	N-asetil glukozamin 6 - sulfataz	HS, KS,

DS: Dermatan Sülfat
HS: Heparan Sülfat
KS: Keratan Sülfat

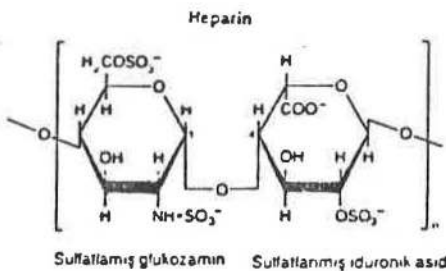
GAG'lar tekrarlayan disakkarit ünitelerine göre en az yedi ayrı yapı oluştururlar. Bunlar kondroitin sülfat, dermatan sülfat, heparin, heparan sülfat, hiyaluronik asit, keratan sülfat I ve II.



Şekil-6- Kondroitin 4 sülfat. Hiyaluronik asit ile, 2 bağlantı proteini yardımı ile sıkıca birleşerek bağ dokusunda büyük agregatlar oluşturur (Şekil 6).

Dermatan Sülfat: Başlıca deride, az miktarda kemik ve gözün sklerasında bulunur. Yapısal olarak kondroitin sülfat ve heparan sülfatı andırır. Arterial düz kas hücreleri tarafından sentezlenen temel GAG'dır.

Keratan Sülfat I ve II: Şekil-4'te gösterildiği gibi Glc-NAc'nın ve arasına Gal'in 6. konumuna bağlı sülfatlar içerirler. Tip I, korneada bol miktarda bulunur. Tip II ise hiyaluronik asite bağlı kondroitin sülfat ile birlikte gevşek bağ dokusunda, kıkırdak ve kemikte bulunur.



Şekil: 7- Heparin.

Kondroitin Sülfatlar: (4'=A, 6'=C) Kıkırdığın önemli bileşenidir (Şekil-6). Sülfat kalıntıları kısmen Ca^{++} ve kısmen de Na^+ bağlar. Korneada, gevşek bağ dokusunda, endokondral kemiğin kalsifikasyon bölgelerinde, nöronların yapısında bulunur.

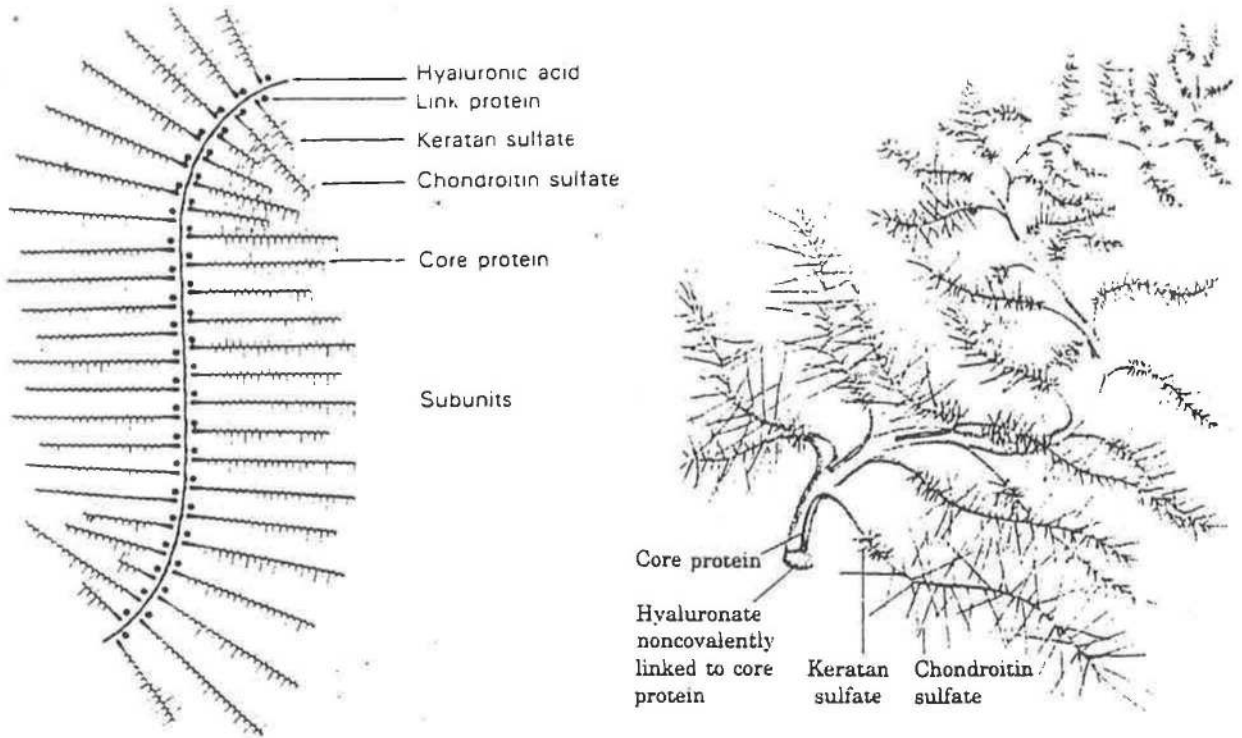
Heparin: Birçok hücre yüzeyinde bulunur. Mast hücrelerinin hücre içi bileşigidir. Ayrıca karaciğer, akciğer ve ciltte bulunur. Önemli bir antikoagülandır. Tekrarlayan disakkarit, glukozamin (GlcN) ve 2 üronik asitten herhangi birini içerir (Şekil-7). Faktör 9 ve 11 ile bağlanır fakat en önemli etkileşimi plazma

antitrombin III'ün lizin kalıntılarına bağlanarak trombini inaktive etme yeteneğini arttırmasıdır. Heparin kapiller duvarda mevcut lipoprotein lipaza bağlanarak dolaşıma salınmasına sebep olur.

Heparan Sülfat: Ekstrasellüler yerleşir. Hücrelerin plazma membranı ile ilişkilidir. Bunlar reseptör gibi davranır ve hücrenin büyümesinin başlatılmasında, hücreden hücreye haberleşmede katkıda bulunurlar.

PROTEOGLİKANLAR:

Bir veya daha fazla GAG ile proteinlerinin bir araya gelerek oluşturduğu yapıya proteoglikanlar denir. Bu çok büyük polianyonlar suya ve katyonlara bağlanarak bağ dokusunun temel maddesini oluştururlar. Proteoglikanlar hücrenin yüzeyinde ve içinde bulunurlar (18, 47). Proteoglikanlar çekirdek proteinine (core-protein) kovalent olarak bağlanmış keratan sülfat, kondroitin sülfat, hiyaluronik asit ve GAG zincirinden oluşmuş yapılardır (Şekil-8) (46, 47, 48).



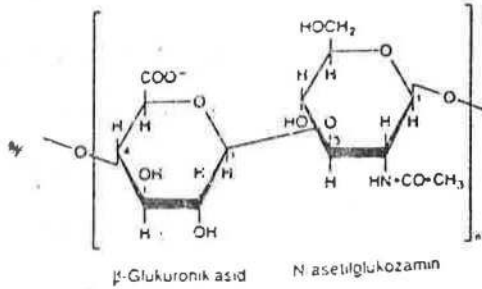
Şekil-8- Kıkırdak proteoglikanının şematik gösterimi. Proteoglikan agregatı.

Çekirdek proteini 300 nm uzunluğunda 250 000 molekül ağırlığındadır. Çekirdek proteininin her bir molekülü yaklaşık 80 tane kondroitin sülfat ve 100 tane keratan sülfat zinciri içerir (Şekil-8). Çekirdek proteini ve GAG'lar arasında üç tip bağlanma kabul edilmektedir; 1. Ksiloz ve serin arasındaki O-glikozitik bağlanma 2. N-asetil galaktozamin ve serin (treonin) arasındaki O-glikozitik bağlanma 3. Asparajinin amin grubunun azotu ile N-asetilglukozamin arasındaki N-glikozitik bağlanmadır.

Negatif yüklü grup içeren GAG zincirleri, büyük hacim meydana getirmek ve etrafını çevreleyen çözücüyü tutmak için çekirdek proteininin dışına doğru uzanırlar. Çekirdek proteininin uç kısmı, GAG zincirlerine ya çok az ya da hiç bağlanmayan bir glikoproteine benzetilmektedir. Uç kısmı 30 nm aralarla non-kovalent bağlanmış, HA'in çok uzun omurgasına bağlı aktif bir bölgedir. Çekirdek proteini ile HA arasındaki etkileşme bağlantı proteininin (MA: 50000) yardımıyla olmaktadır. Makro moleküler kompleks çok hidratlaşmış ve negatif yüklüdür; doku yüzeyini ayıran ve gerilme direncini sağlayan kollajen fibrilleri üzerindeki bazik yüklerle elektrostatik olarak etkileşmektedir. Çekirdek-proteininin sentezi ve proteine bağlanmalar endoplazmik retikulumda olur, sentezin son basamakları ve ardından zincirlerin modifikasyonu golgi aparatında olur (46, 47).

HİYALURONİK ASİT (HA)

Hiyaluronik asit en yaygın GAG'dır. Yapısına ait bilgi Şekil-9'da verilmiştir. HA, β (1-3), ve β (1-4) glikozidik bağlarıyla bağlanmış, D-glukuronik asit ve N-asetil D-glukozaminin tekrar eden disakkarit birimlerinden oluşmuş dallanmamış bir polisakkarittir (3, 16, 17, 18). HA polimeri 400-1000 kda molekül ağırlığındadır (49). Bağ dokusunun temel maddesidir. Ayrıca kıkırdak dokusu deri ve deri altı bağ dokusunun yapısında da bulunur (47, 50).



Şekil: 9- Hiyaluronik asit.

Diğer GAG'da olduğu gibi HA 'in konsantrasyonu dokudan dokuya farklılık gösterir. HA hücre içerisinde kompleks agregatlarda, fibröz yapıda ve eklem sıvısında bulunur. Ayrıca mafsallık kıkırdağında total GAG'ların %1'inden HA sorumludur, fakat immobilize agregatlardaki proteoglikana tamamen bağlanmaktadır. HA intrasellüler matrikste güçlü bir mobilite gösterir.

Vücut içindeki HA'in dağılımı, HA'in yapım-yıkım oranına bağlıdır. HA'in en büyük kaynağı deridir, iç organlardaki total miktarı daha az olmasına rağmen, karaciğer hariç diğer dokularda konsantrasyonları hemen hemen aynıdır (Tablo-5) (65).

Tablo-4: HA'in sentezini arttıran bazı ajanlar

Uyarılar	Hedef Hücreler/doku	Yanıt
- Hormonlar		
İnsülin.....	Tavuk fibroblastları.....	Aktivasyon
Paratiroid.....	Kemik organ Kültürü.....	Aktivasyon
Kalsitonin.....	Embriyonik baldır kemiği.....	Aktivasyon
Östrojen.....	Kıkırdak hücresi.....	İnhibisyon
Testesteron.....	Horoz ibiği.....	Aktivasyon
Glukokortikoidler.....	Fibroblastlar.....	İnhibisyon
- İnflamasyon ve İmmun Reaksiyonlar		
İnterlökin-1.....	Sinovial hücreler.....	Aktivasyon
İnterferonlar.....	Fibroblastlar.....	Aktivasyon
Bağdokusunu aktif eden peptitler.....	Fibroblastlar.....	Aktivasyon
Lipopolisakkaritler.....	Fibroblastlar.....	Aktivasyon
- Hücrel mediatörler		
Siklik AMP.....	Fibroblastlar.....	Aktivasyon
Adenilat Siklazın uyarımı.....	Fibroblastlar.....	Aktivasyon
Prostaglandinler.....		Aktivasyon
- Çevresel		
Sıcaklık < 37 °C.....	Sinovial fibroblastlar.....	İnhibisyon
Düşük pH.....	Fibroblastlar.....	Aktivasyon
- Hücre proliferasyonu		
Growth faktör.....	Deri fibroblastlar.....	Aktivasyon
Tümör Hücreleri.....	Intrinsik Fibroblastlar.....	Aktivasyon
- Muhtelif		
Adenozin.....	Fibroblastlar.....	Aktivasyon
Retinoid.....	Domuz epidermisi.....	Aktivasyon

Tablo-5: Çeşitli dokulardaki HA konsantrasyonları (49, 59, 60, 61, 62, 63, 64).

Kaynak	Konsantrasyon (mg/l)
Deri dokusu.....	200
Vitreus doku.....	140 - 338
Göbek kordonu.....	4.1
Amniyon sıvısı.....	11.9 - 33.5
Eklem sıvısı.....	8.5 - 18
Lenf sıvısı.....	0.02 - 0.5
Beyin omurilik sıvısı.....	< 0.005
Serum.....	0.01 - 0.1
İdrar.....	0.1 - 0.5

Göz lensinin arka kısmındaki vitröz yüzeyin ışığı geçirme, viskoz ve jelatinöz özellikleri, içerdiği HA konsantrasyonuna bağlıdır. Parankimatöz dokularda hücreleri birbirine yapıştıran maddedir. Viskoziteyi sağlayıcı, şok emici görevi vardır (47, 48, 58).

HA ovumun zona pellucidasının bütünlüğünü korur. Embriyonik gelişim sürecinde hücrelerin hızla çoğalıp aktif olarak göçtükleri morfogenezin ilk safhalarında HA baskın olarak rol oynar (47, 66).

Dokular geliştikçe değişik derecelerde proteoglikan, kollajen ve diğer makromoleküllerle desteklenir. Benzer bir durum metamorfozda, yara iyileşmesi ve erişkin dokuların yeniden şekillenmesi esnasında meydana gelmektedir (47).

Sitokinler üzerinde yapılan çalışmalarda tüberkülin ve BCG'ye karşı gelişen geç tip hipersensitivite reaksiyonlarında deride ve akciğerlerde lokal HA içeriğinin arttığı ve HA'in lenf yollarına geçtiği bildirilmiştir (59, 67, 68).

Lenf sıvısındaki HA düzeyi kan serumundan 100-1000 kez daha

yüksektir. Bununla beraber serum HA konsantrasyonu yaşla birlikte artmaktadır. 50 yaşın altındakilerde ortalama 300 µg/l, 60-70 yaş grubunda yaklaşık 75 µg/l'dir (69, 70). HA, lenf düğümlerinden absorbe edilir ve bütün lenf nodları HA'in absorpsiyonunu ve indirgenmesini eşit oranlarda etkilerler (71, 72). Lenfatik sistem periferel dokulardan HA'in uzaklaştırılmasında major rol oynar (73).

HA, hiyaluronidaz, glukuronidaz ve asetil heksos aminidazla monosakkaritlerine indirgenir (74). Testis enzimleri hariç, bütün memeli hiyaluronidazlarının aktivitesi lizozomal pH'da etkilidir. Bu yüzden HA, hücre içinde indirgenmektedir. Birçok dokuda intrasellüler matriksin doğası bu gibi büyük moleküllerin diffüzyonuna ve geçirgenliğine yüksek direnç gösterdiğinden HA'in metabolik siklusu kısadır. Bazı patojenik bakteriler, hiyaluronatın koruyucu duvarını yıkan ve enfeksiyona hassas hale dönüştüren hiyaluronidaz salgılarlar. Spermatazoada bulunan hiyaluronidaz, ovumun dıştaki mukopolisakkarit tabakasını hidroliz ederek spermin ovuma girmesini kolaylaştırır. Memeli testislerinden elde edilen hiyaluronidaz vücudun çeşitli kısımlarında görev alan ilaçların dağılmasını arttırmak için terapötik olarak kullanılmaktadır (47).

HA, karaciğerde hızla yıkılarak uzaklaştırılır. Karaciğerde, HA'in uzaklaştırılmasından sorumlu hücreler sinusoidal endotelial hücrelerdir, bu hücreler HA'i asetat ve laktata kadar yıkabilir (75, 76, 77).

Dalakta yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen, dalak yapım ve yıkımda çok fazla etkili değildir. HA hepatik endotelial hücrelerdeki reseptörlerle uzaklaştırılması sonucu kandan hızla temizlenir, ratlarda ve insanlarda 2.5-5.5 dakikada yarılanmaktadır (78, 79, 80). İdrarla sadece kısa zincirli polimerler halinde atılabilmektedir (Bu zincirler glomerülleri geçmek için yeterli hacime sahiptir, 10000 ağırlığında olanlar) (63). Sağlıklı kişilerde klirens oranı, hepatik kan

akımı düzeyine yakındır. Bu yüzden plazma HA düzeyleri, buna bağlı olarak hepatik sinusoidlere doğru kan akımı ile kardiyak output faktörlerine duyarlıdır.

Tablo-6: HA'in kan akımındaki Turnoveri

	Turnover ($\mu\text{g}/\text{min}$ per kg wt)	Plazma HA ($\mu\text{g}/\text{l}$)
Koyun		
Yetişkinlerde* (N=11)	0.7	72 - 228
Fotal (N=7)	8.3 - 16.3	100 - 215
İnsan		
Normal (N=4)	0.33 - 0.61	32 - 80
Primer bilier siroz (N=4)	0.77 - 1.00	160 - 1130
Romataid Aitrit (N=4)	0.34 - 1.84	34 - 116**

* Dr Lena Lebel tarafından, koyunlar üzerinde yapılmış yayınlanmamış çalışma

** En yüksek turnover, en yüksek HA düzeyine sahip hastalarda meydana gelmekte.

Dolaşımdaki HA'in küçük bir kısmı idrarla atılmaktadır, renal vasküler yatağa geçen konsantrasyon gradienti beklenenden daha yüksektir. Renal tübüller filtre olmuş materyalin bir kısmını absorblar ve yok eder (63). Bu mekanizmanın günlük total HA klirensine katkısı % 1'dir. 22 tane sağlıklı kişi üzerinde yapılan çalışmada ortalama üriner atılım $33 \pm 77 \mu\text{g}/24$ saat olarak saptanmıştır (18). Bununla beraber üriner atılım vücut ağırlığı ve plazma HA konsantrasyonu ile ilişkilidir ve serum HA düzeyi artan hastalıklarda artma göstermektedir (63, 81).

Tablo-6 Siklusun günlük turnoverını göstermekte ve farklılıklar çok önemli olup hızlı doku büyümesiyle, HA arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır. Vücutta bozulmamış organlardaki HA yıkımı hızlı bir şekilde tamamlanmaktadır. Gözün vitrozünde HA'in turnoverı diffüzyona bağlıdır ve kısmen yavaştır, oysa suda daha hızlıdır (82, 83).

Endotelyal hücre sayısındaki herhangi bir azalma veya fonksiyon-

nun bozulması HA eliminasyonunu zorlaştırır. Mezotelyomada, Wilm's tümöründe, akut karaciğer hasarında plevra ve karın içi kavitede çok yüksek konsantrasyonlarda HA oluşmaktadır, romatoid artritte, böbrek hasarında ve sirozda orta derecede bir artış görülmektedir. HA üretiminin lokal olarak artışı bir kaç değişik akciğer hastalığının göstergesidir (18).

MATERYAL ve METOD

I- ÖRNEKLERİN SAĞLANMASI:

Bu çalışma; Ekim 1995-Şubat 1997 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Kardiyoloji Kliniğinde yatmakta olan, plörezili 55 hastanın plevra sıvılarında yapılmıştır. Tüm olguların klinik tanısı, laboratuvar bulgularının yanı sıra radyolojik, mikrobiyolojik ve histopatolojik değerlendirme sonucu kondu. Buna göre olguların 21'i malign mezotelyoma, 15'i akciğer kanseri, 14'ü tüberküloz plörezi, 5'i ise konjestif kalp yetmezliği tanısı almıştır. Hastalar 17-92 yaş grubu arasında olup 36'sı erkek 19'u kadın olmak üzere toplam 55 kişi idi.

II- ÖRNEKLERİN ALINMASI:

Hastaların plevra sıvıları tedaviye başlanmadan önce alındı, düz tüplere kondu.

Bütün olguların plevra sıvılarındaki biyokimyasal tetkikler aynı gün çalışıldıktan sonra, pleural HA düzeylerinin tespiti için bir miktar alınarak -20 °C'de saklandı.

III- KULLANILAN ARAÇ, GEREÇ VE KİMYASAL MADDELER

- 1- Otoanalizör; Beckman Synchron - CX5 - Delta
- 2- Santrifüj; Beckman
- 3- Otomatik pipet
- 4- LKB WALLAC 1275 GAMMA COUNTER
- 5- Cam, deney ve santrifüj tüpleri, cam pipetler
- 6- HA tayininde kullanılan HA kiti Pharmacia'dan temin edildi

(Pharmacia AB, S-75182 Uppsala Sweden)

IV- Elde edilen bulguların istatistiksel değeriendirilmesinde, tek yönlü varyans analizi ve iki ortalamayı test eden student's 't' testleri kullanıldı.

HİYALURONİK ASİT TAYİNİ: (84, 85)

Pharmacia HA kitinin her bir paketi, maksimum 55 deney yapacak kadar reaktif içerir. Kitin üretim tarihinden sonra birbuçuk ay içinde kullanılması gerekmektedir. Son kullanma tarihine kadar 2-8 °C'de saklanması yeterlidir.

HA Kitinin İçeriği:

1- HA Standardı:

25; 75; 200; 500 ve 1000 µg/l Kullanılana kadar 2-8 °C'de saklanır.
0.5 ml.

2- HA Standardı O Kullanılana kadar 2-8 °C'de saklanır.
(dilue edilmiş standart)
6 ml

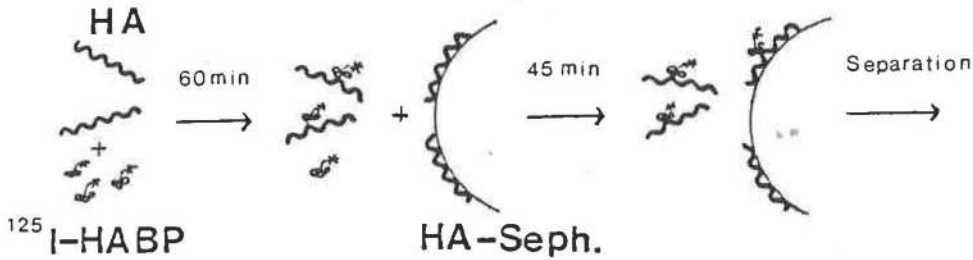
3- HABP - ¹²⁵I ~ 180 kBq 1/31 oranında Tracer solüsyonu ile dilue edilir. 6 ml
Tracer solüsyonunda
200 µl HABP - ¹²⁵I çözülür.
Haftalık hazırlanır.

4- Dilüsyon Kullanılana kadar 2-8 °C'de saklanır.
(mavi renkli)
15 ml

- 5- HA - Sepharose..... Kullanılana kadar 2-8 °C'de saklanır.
(Yeşil renkli)
6 ml
- 6- Ayırıştırma Suspansiyonu..... Kullanılana kadar 2-8 °C'de saklanır.
220 ml

HA TAYİNİNİN PRENSİBİ

HA tayini, kullanılan reaktiflere bağlı olarak radyometrik yöntemle de yapılmaktadır. Testin temel prensibi, sığır kıkırdığından izole edilen hiyaluronik asit bağlayan proteinin (HABP) kullanımına dayanmaktadır. Hasta örneklerindeki HA, ^{125}I - işaretli HABP ile bağlanır. Daha sonra Bağlı olmayan ^{125}I - işaretli HABP, küçük molekül ağırlıklı ve düşük yoğunluktaki Sepharose partikülleri ile kovalent olarak bağlı HA'nın inkübasyonu sonucu ölçülür. Santrifüjden sonra üstteki süzün-tü dökülerek ayırıştırma yapılır. Çöken partiküllerdeki radyoaktivite gamma counter ile ölçülür ve bu yanıt örnekteki HA konsantrasyonu ile ters orantılı olarak değişmektedir.



Şekil-10 HA içeren örnek radyoaktif etiketli protein (^{125}I -HABP) ile inkübe edilir. 60 dakika inkübasyondan sonra HA-Sepharose ilave edilir ve 45 dakika sonra HA-Sepharose jel santrifüjle solüsyondan ayırıştırılır ve jeldeki radyoaktivite tayin edilir.

Deneyin Yapılışı

Numuneler için önce bir standart eğri hazırlanmaktadır.

İşlem sırası

- 1- Polisitren tüplere 100 µl örnek (plevra sıvısı) pipetlenir.
- 2- 200 µl HABP - ¹²⁵I-solüsyonu ilave edilir.
- 3- Bütün tüpler buzdolabında (4-20 °C) 60 dakika inkübe edilir.
- 4- İnkübasyondan sonra 100 µl HA- Sepharose ilave edilir.
- 5- 45 dakika 4-20 °C'de yeniden inkübe edilir.
- 6- 2 ml Decanting Solüsyon ilave edilir.
- 7- 10 dakika 1500xg santrifüj edilir. Üstteki solüsyon tüpler ters çevrilerek boşaltılır ve bu şekilde bırakılır.
- 8- Tüpün dibindeki çökelek gamma counter'da ölçülür. Aynı işlemler standart eğri elde edilmesi için HA standardıyla (25; 75; 200; 500 ve 1000 µg/l) yapılır.

Sonuçların Hesaplanması:

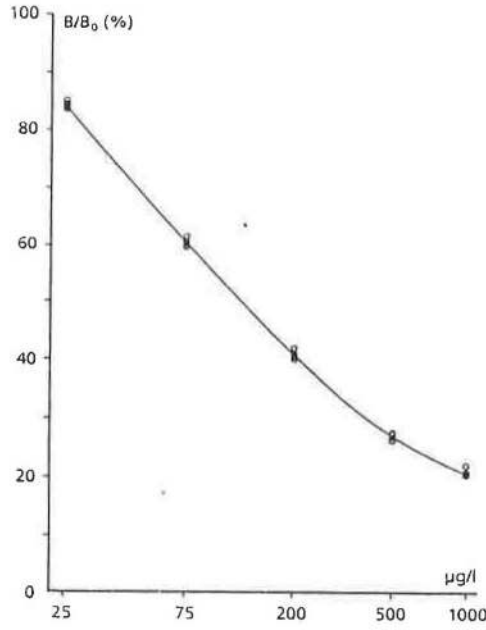
- 1- B → Standartlar ve bilinmeyenler için sayımı gösterir.

Bo → O- Standardın yüzde ortalama sayımını gösterir.

$$\% \text{ Bağlanma Aktivitesi} = \frac{B}{B_o} \times 100$$

- 2- HA konsantrasyonuna karşı, standartların yüzde değerleri (B/Bo) logaritma kağıdına geğirilir ve bir standart eğri elde edilir.
- 3- Standart eğriden bilinmeyen örneklerin konsantrasyonları okunur. Gamma Counter bu işlemleri otomatik olarak yapar, direk HA konsantrasyonunu verir.

Standart Eğri



Sensitivite

Bulunma sınırı < 10 µg/l

Interference

<100 mg/l altında kondroitin sülfat

<50 mg/l altında keratan sülfat

<500 mg/l altında fibronektin ölçümü etkilemiyor.

<u>Ölçüm Aralığı</u>	<u>Normal Değerler</u>
Serum için..... 10-500 µg/l	7-65 µg/l

LAKTAT DEHİDROJENAZ TAYİNİ:

Laktat Dehidrojenaz Beckman Synchron CX-5 Delta otoanalizörü ile ölçüldü.

Kimsayal maddeler:

L- Laktik Asid

TAPS

NAD

Konsantrasyonu

50 mmol/L

97 mmol/L

11 mmol/L

Prensibi:

L- Laktat + NAD⁺ → Piruvat + NADH + H⁺ Reaksiyonda, LDL dönüşümlü olarak Nikotinamid Adenin dinükleotidin, Nikotinamid Adenindinükleotid'e indirgenmesiyle L-Laktatin pirüvata dönüşümünü katalizler.

Normal Değerleri: 91-180 IU/L

PROTEİN TAYİNİ:

Protein tayini Beckman Synchron CX-5 Delta otoanalizörü ile ölçüldü.

Kimyasal Maddeler

Konsantrasyon

CuSO₄

12 mmol/L

Tampon

pH=12,5

Prensip: Otoanalizör ile total protein ölçümü, Biüret Metodu ile yapıldı.

Proteinler, kuvvetli alkali ortamda CuSO₄ ile pembemsi mor renkte bir kompleks oluştururlar. Bu reaksiyon en az iki veya daha fazla peptid bağı için özeldir.

Normal Değerler: 6.7 - 8.2 g/dl

BULGULAR

HASTA GRUBU BULGULARI:

a-) Yaş grubu 17-92 arasında olan 55 plörezili hastanın yaş ortalaması $53,74 \pm 16,72$. Bunlardan 19'u kadın, 36'sı erkekti. Bu hastaların 21'i mezotelyoma, 15'i akciğer kanseri, 14'ü tüberküloz plörezi, 5'i ise konjestif kalp yetmezlikli idi.

b-) Hastalardan alınan plevra sıvılarının 41'i eksuda, 14'ü transuda karakterindeydi. Plevra sıvısının eksuda ve transuda karakterinde olması için aşağıdaki kriterlerden birisinin bulunması gerekir (29,38).

Eksuda

$$1- \text{Plevra sıvısı LDH} \geq 200 \text{ IU/L}$$

$$2- \frac{\text{Plevra sıvısı LDH}}{\text{Serum LDH}} \geq 0.6$$

$$3- \frac{\text{Plevra Sıvısı TP}}{\text{Serum TP}} \geq 0.5$$

Bu değerlerin altındaki değerler transüdadır.

Tüm olgularda bu değerler Tablo-7'de gösterilmiştir. Malign mezotelyomalı, akciğer kanserli, tüberküloz plörezili, kontestif kalp yetmezlikli olguların plevra sıvılarındaki HA değerleri Tablo-8, Tablo -9, Tablo-10, Tablo -11'de gösterilmiştir.

Tablo-7 Plevral effüzyonların değerlendirilmesinde kullanılan testler

No	İsim	Cins	Yaş	PS (LDH) (IU/L)	<u>PS (LDH)</u> S (LDH)	<u>PS (TP)</u> S (TP)	Rivalta	Transuda	Eksuda
1	N.Ö.	K	45	142	0.57	2.4	(+)	(-)	(+)
2	V.E.	K	67	168	1.17	0.63	(+)	(-)	(+)
3	O.A.	E	58	215	0.70	0.73	(+)	(-)	(+)
4	F.A.	K	68	264	1.26	0.59	(+)	(-)	(+)
5	İ.A.	E	35	1792	11.13	0.49	(+)	(-)	(+)
6	E.E.	E	73	449	1.45	1.41	(+)	(-)	(+)
7	F.D.	K	78	140	0.87	0.79	(+)	(-)	(+)
8	K.A	K	59	108	0.55	0.57	(+)	(-)	(+)
9	K.D.	E	39	218	0.99	0.96	(+)	(-)	(+)
10	S.G.	E	92	225	1.92	0.86	(+)	(-)	(+)
11	MM	E	54	1113	6.32	0.56	(+)	(-)	(+)
12	RT.	E	53	574	1.85	0.71	(+)	(-)	(+)
13	MÖ	K	68	100	0.46	0.59	(+)	(-)	(+)
14	MM	K	64	342	0.79	0.65	(+)	(-)	(+)
15	CU	E	28	246	1.39	0.65	(+)	(-)	(+)
16	HA	E	48	1705	1.90	0.48	(+)	(-)	(+)
17	SÜ	E	67	236	1.73	0.63	(+)	(-)	(+)
18	Aİ	E	19	1041	3.21	0.66	(+)	(-)	(+)
19	Y.Ö.	E	18	513	1.71	0.5	(+)	(-)	(+)

PS: Plevra sıvısı

S : Serum

Tablo 7'nin devamı

No	İsim	Cins	Yaş	PS (LDH) (IU/L)	<u>PS (LDH)</u> S (LDH)	<u>PS (TP)</u> S (TP)	Rivalta	Transuda	Eksuda
20	CG	E	40	149	0.69	0.52	(+)	(-)	(+)
21	CD	E	53	259	2.21	0.61	(+)	(-)	(+)
22	BD	K	69	213	1.07	0.77	(+)	(-)	(+)
23	AT	E	42	195	0.57	0.32	(-)	(+)	(-)
24	SS	K	41	291	1.53	0.86	(+)	(-)	(+)
25	MD	E	50	98	0.55	0.20	(-)	(+)	(-)
26	NA	K	67	348	2.03	0.49	(+)	(-)	(+)
27	ŞY	E	53	163	0.59	0.23	(-)	(+)	(-)
28	MT	E	49	918	2.93	0.52	(+)	(-)	(+)
29	ZA	K	56	776	2.65	0.51	(+)	(-)	(+)
30	KB	E	59	135	0.53	0.35	(-)	(+)	(-)
31	EÖ	E	44	185	0.52	0.32	(-)	(+)	(-)
32	FT	K	46	154	0.51	0.34	(-)	(+)	(-)
33	SÇ	E	73	177	0.54	0.49	(-)	(+)	(-)
34	ÜE	E	60	115	0.45	0.31	(-)	(+)	(-)
35	TS	E	77	123	0.58	0.39	(-)	(+)	(-)
36	HG	E	57	208	1.91	0.51	(+)	(-)	(+)
37	EK	K	46	379	1.36	0.64	(+)	(-)	(+)
38	ZD	K	76	1007	2.25	0.55	(+)	(-)	(+)

PS: Plevra sıvısı

S : Serum

Tablo 7'nin devamı

No	İsim	Cins	Yaş	PS (LDH) (IU/L)	PS (LDH) S (LDH)	PS (TP) S (TP)	Rivalta	Transuda	Eksuda
39	ME	E	27	1739	5.08	0.56	(+)	(-)	(+)
40	EA	K	65	573	2.38	0.55	(+)	(-)	(+)
41	RB	E	38	310	1.07	0.5	(+)	(-)	(+)
42	DK	E	65	700	3.74	0.58	(+)	(-)	(+)
43	HG	K	49	1019	5.59	0.74	(+)	(-)	(+)
44	ST	K	17	540	1.08	0.68	(+)	(-)	(+)
45	RB	E	50	63	0.33	0.28	(-)	(+)	(-)
46	AA	E	68	327	1.37	0.63	(+)	(-)	(+)
47	HA	E	48	973	4.9	0.58	(+)	(-)	(+)
48	ÖY	E	70	101	0.49	0.26	(-)	(+)	(-)
49	MA	E	60	261	1.03	0.87	(+)	(-)	(+)
50	SA	K	24	268	1.41	0.55	(+)	(-)	(+)
51	KT	E	65	146	0.56	0.40	(+)	(-)	(+)
52	MC	E	22	168	0.53	0.36	(+)	(-)	(+)
53	YO	E	61	113	0.51	0.39	(-)	(+)	(-)
54	NB	K	72	190	0.47	0.45	(-)	(+)	(-)
55	NA	E	67	106	0.49	0.40	(-)	(+)	(-)

PS: Plevra Sıvısı

S: Serum

Tablo-8 Mezotelyomalı olgularda HA Değerleri

No	İsim	Cins	Yaş	PS (HA, µg/l)
1	NÖ	K	45	1792,66
2	VE	K	67	1844,77
3	OA	E	58	1814,19
4	FA	K	68	1314,28
5	İA	E	35	1408,51
6	EE	E	73	2017,58
7	FD	K	78	1463,37
8	KA	K	59	1717,25
9	KD	E	39	1988,88
10	SG	E	92	1470,37
11	MM	E	54	1579,56
12	RT	E	53	1921,19
13	MÖ	K	68	1713,15
14	MM	K	64	1619,67
15	CU	E	28	1930,39
16	HA	E	48	1435,68
17	SÜ	E	67	1562,68
18	Aİ	E	19	1505,90
19	YÖ	E	18	1680,74
20	CG	E	40	1435,60
21	CD	E	53	1986,51
Ortalama Değer $\bar{X}$				1676,33
Standart Sapma SD				219,065

Tablo-9 Akciğer kanserli Olgularda HA Değerleri

No	İsim	Cins	Yaş	PS (HA, µg/l)
22	BD	K	69	75,83
23	AT	E	42	36,61
24	SS	K	41	24,37
25	MD	E	50	192,94
26	NA	K	67	1674,73
27	ŞY	E	53	118,95
28	MT	E	49	1579,25
29	ZA	K	56	1812,03
30	KB	E	59	191,29
31	EÖ	E	44	76,49
32	FT	K	46	48,44
33	SÇ	E	73	69,79
34	ÜE	E	60	90,97
35	TS	E	77	38,79
36	HG	E	57	783,47
Ortalama Değer $\bar{X}$				454,263
Standart Ortalama SD				666,505

Tablo-10 *Tüberküloz Plörezili Olgularda HA Düzeyleri*

No	İsim	Cins	Yaş	PS (HA, µg/l)
37	EK	K	46	1388,48
38	ZD	K	76	1423,73
39	ME	E	27	1572,04
40	EA	K	65	1650,91
41	RB	E	38	1504,12
42	DK	E	65	1723,41
43	HG	K	49	1039,80
44	ST	K	17	1570,16
45	RB	E	50	1851,39
46	AA	E	68	1715,19
47	HA	E	45	1884,85
48	ÖY	E	70	1758,75
49	MA	E	60	1719,29
50	SA	K	24	1779,87
Ortalama Değer $\bar{X}$				1612,999
Standart Sapma SD				222,805

Tablo-11 *Konjestif Kalp Yetmezlikli Olgularda HA Düzeyleri*

No	İsim	Cins	Yaş	PS (HA, µg/l)
51	KT	E	65	0,296
52	MC	E	22	5,460
53	YO	E	61	15,763
54	NB	K	72	0,237
55	NA	E	67	25,419
Ortalama Değer $\bar{X}$				9,435
Standart Sapma SD				10,948

SONUÇLAR

Bulguların istatistiksel hesaplamaları varyans analizi yapılarak değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmada TUKEY Yöntemi izlendi.

$$F= 48,98 \Rightarrow P<0.0001$$

- 1- Malign Mezotelyoma ile akciğer kanserli olguların plevral HA değerleri karşılaştırıldığında önemli bir fark görüldü.

$$(1676,33 \mp 219,065; 454,263 \mp 666,505), (P<0,0001) \text{ (Tablo-12)}$$

- 2- Malign Mezotelyoma ile tüberküloz plörezili olguların plevral HA değerleri karşılaştırıldığında önemli bir fark görülmedi.

$$(1676,33 \mp 219,065; 1612,999 \mp 222,805), (P>0,05) \text{ (Tablo-13)}$$

- 3- Malign Mezotelyoma ile konjestif kalp yetmezlikli olguların plevral HA değerleri karşılaştırıldığında önemli bir fark görüldü.

$$(1676,33 \mp 219,065; 9,435 \mp 10,948) (P<0,0001) \text{ (Tablo-14)}$$

- 4- Akciğer kanseri ile tüberküloz plörezili olguların plevral HA değerleri karşılaştırıldığında önemli bir fark görüldü.

$$(454,263 \mp 666,505; 1612,999 \mp 222,805) (P<0,0001) \text{ (Tablo-15).}$$

- 5- Akciğer kanseri ile konjestif kalp yetmezlikli olguların plevral HA değerleri karşılaştırıldığında önemli bir fark görüldü.

$$(454,263 \mp 666,505; 9,435 \mp 10,948) (P<0,05) \text{ (Tablo-16).}$$

- 6- Tüberküloz plörezi ile konjestif kalp yetmezlikli olguların plevral HA değerleri karşılaştırıldığında önemli bir fark görüldü.

$$(1612,999 \mp 222,805; 9,435 \mp 10,948) (P< 0,0001) \text{ (Tablo-17).}$$

7- Akciğer kanseri, tüberküloz plörezi ve konjestif kalp yetmezliği grupları kontrol grubu olarak alındığında; bu olgular ile malign mezotelyomalı olguların plevra sıvısındaki HA değerleri arasında önemli fark görüldü.

(865,974 $\mp$ 795,605; 1676,33 $\mp$ 219,065) (P<0,0001) (Tablo-18).

Tablo-12 Malign Mezotelyoma ile Akciğer Kanseri olgularda plevral HA Değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Değişken	Mezotelyoma		Akciğer Kanseri		t	P
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
HA	1676,33	219,065	454,263	666,505	6,84	P<0,0001

Tablo-13 Malign Mezotelyoma ile Tüberküloz plörezili Olgularda plevral HA değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması

Değişken	Mezotelyoma		Tüberküloz Plörezi		t	P
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
HA	1676,33	219,065	1612,999	222,805	0,82	P>0,05

Tablo-14 Malign Mezotelyoma ile Konjestif Kalp Yetmezlikli Olgularda Plevra HA değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Değişken	Mezotelyoma		Konjestif Kalp Yetmezliği		t	P
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
HA	1676,33	219,065	9,435	10,948	34,68	P<0,0001

Tablo-15 Akciğer Kanseri ile Tüberküloz Plörezi olgularda plevral HA Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması

Değişken	Akciğer Kanseri		Tüberküloz Plörezi		t	P
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
HA	454,263	666,505	1612,999	222,805	-6,36	P<0,0001

Tablo-16 Akciğer Kanseri ile Konjestif Kalp Yetmezlikli Olguların Plevral HA değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

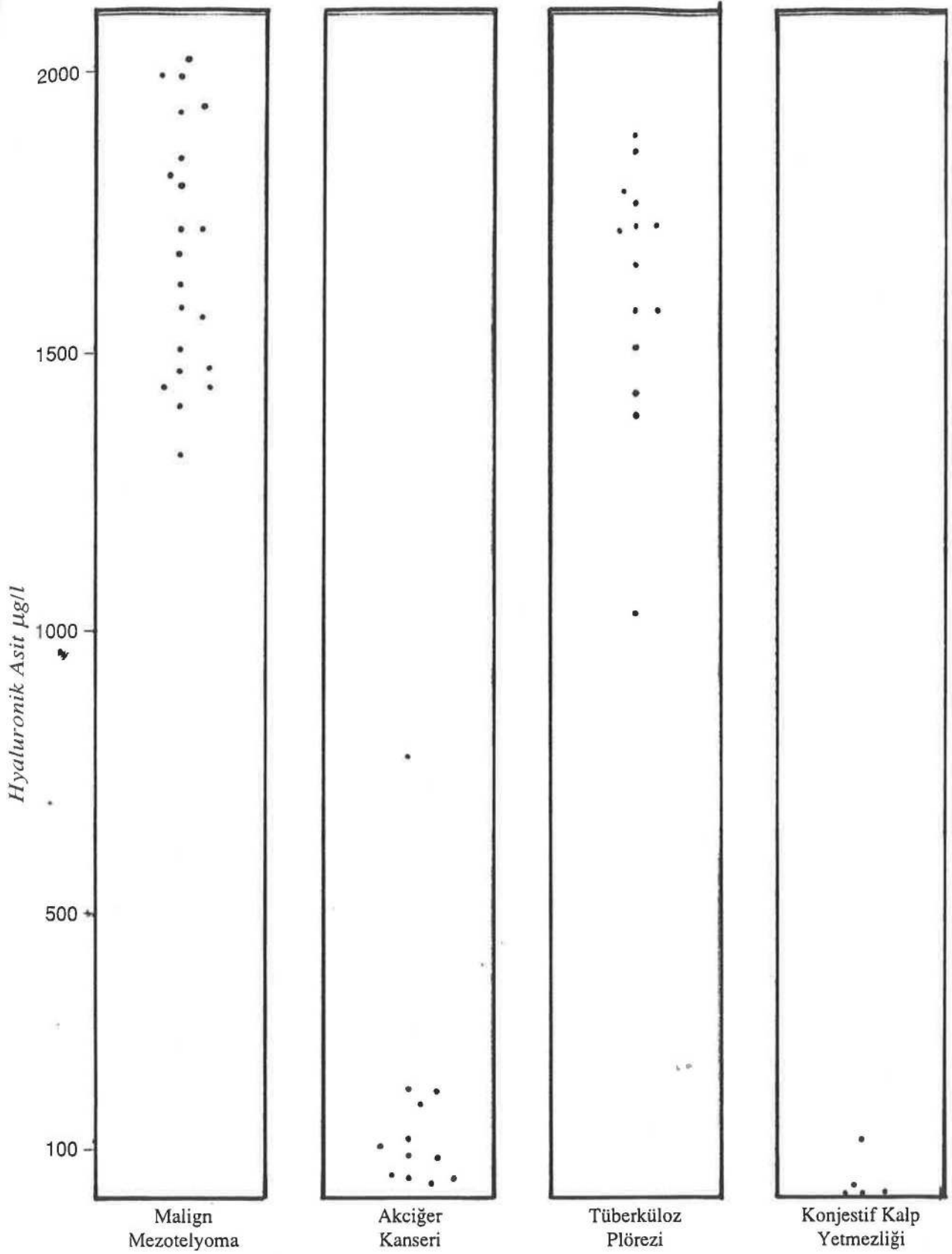
Değişken	Akciğer Kanseri		Konjestif Kalp Yetmezliği		t	P
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
HA	454,263	666,505	9,435	10,948	2,58	P<0,05

Tablo-17 Tüberküloz Plörezi ile Konjestif Kalp Yetmezlikli Olguların Plevral HA Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması

Değişken	Tüberküloz Plörezi		Konjestif Kalp Yetmezliği		t	P
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
HA	1612,999	222,805	9,435	10,948	26,24	P<0,0001

Tablo-18 Kontrol Grubu ile Malign Mezotelyomalı Olguların Plevral HA Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması

Değişken	Kontrol Grubu		Mezotelyoma		t	P
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
HA	865,974	795,605	1676,33	219,065	5,605	P<0,0001



Şekil-11 Çeşitli etyolojilere bağlı gelişen, pleural effüzyonlu 55 hastanın pleura HA konsantrasyonları, Yatay çizgiler her bir gruptaki ortalama değerleri göstermektedir.

TARTIŞMA

Bu araştırmada malign mezotelyoma ve diğer nedenlere bağlı plevral effüzyonların ayırıcı tanısında hiyaluronik asitin (HA) önemi araştırıldı. Hastaların tümünün plevra sıvılarında HA'in miktarı ölçüldü; olguların 21'i mezotelyoma, 15'i akciğer kanseri, 14'ü tüberküloz plörezi, 5'i ise konjestif kalp yetmezliği tanısı almıştı. Olguların 41'inin plevra sıvısı eksuda, 14'ünün transuda karakterindeydi.

Malign mezotelyoma, akciğer kanseri, tüberküloz plörezi ve konjestif kalp yetmezliği olgularının plevra sıvılarının HA düzeyleri sırasıyla 1676,33 µg/l, 454,263 µg/l, 1612,99 µg/l, 9,435 µg/l olarak bulundu. Plevra sıvısı HA değerleri malign mezotelyomada akciğer kanserine ve konjestif kalp yetmezliğine göre anlamlı yüksekti, fakat malign mezotelyomalı ve tüberküloz plörezili hasta grubunun plevral sıvı HA değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Akciğer kanseri, tüberküloz plörezi ve konjestif kalp yetmezliği kontrol grubu olarak alındığında, mezotelyomalı olguların plevral HA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti (sırasıyla; 1676,33 ± 219,065 µg/l ; 865,974 ± 795,605 µg/l) (Şekil-11).

Yapılan çalışmalarda da, plevral HA düzeyleri malign mezotelyomada diğer nedenlere bağlı effüzyonlara göre yüksek bulunmuştur (2, 3, 4, 9, 12, 13, 20, 21, 24, 25, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94). Ayrıca bu çalışmaların birinde mezotelyomalı hastaların % 73'ünde HA düzeyi yüksek bulunurken, konjestif kalp yetmezliği hariç non-malign inflamatuvar durumların % 23'ünde de HA düzeyi yüksek bulunmuştur (20).

HA'in invivo sentezini düzenleyen mekanizmalar ayrıntılarıyla bi-

linmemesine rağmen bazı inflamatuvar mekanizmaların bu polisakkaritin sentezinde bir artışa neden olduğu kabul edilmektedir (95). Bir dizi immun düzenleyici fonksiyonlar, HA düzeyi ile ilgilidir. HA üretimi ve HA'in T-hücreleri üzerine belirgin etkisi sitokinlerle, özellikle IL-1, IL-6 ve tümör nekrozis faktör ile uyarılmaktadır (57, 58).

Tümör hücreleri kendi kendilerine büyük miktarda HA üretirler veya karşılıklı olarak stromayı çevrelemede; sentezin artmasına neden olurlar ve böylece onların dağılmasını kolaylaştırırlar (96).

Mezotelyal hücreler kollojen, laminin, elastin ve HA gibi proteoglikanları sentezlemektedir (9, 10, 12, 13, 14, 15, 27). HA, bağ dokusunda, plevra ve peritonun mezotelyal hücrelerini içeren mezenşimal hücrelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Malign mezotelyomalar plevral sıvıya viskoz görünüm kazandırabilecek miktarda (HA) üretebilirler (20).

Tümör dokularında ortaya çıkan HA'in histokimyasal incelenmesi mezotelyomanın teşhisinde yardımcı olmaktadır (12, 13, 24, 25, 27, 86, 94, 97, 98). Mezotelyomanın sıklıkla ilk bulgusu plevral ve peritoneal effüzyondur ve tanıdan birkaç ay önce ortaya çıkabilir (6). Malign mezotelyomalı hastaların % 25'inde altı ayı geçen sürede tanı koymada gecikme olmuştur (99). Bu hastalar tüberküloz, lupus eritematozus veya romatid artrit gibi yanlış tanı almışlardır. Torasentez ile yapılan plevral sıvının sitolojik tetkikinde, sonuç sıklıkla negatif olarak elde edilmiştir. Çünkü plevranın kalınlaşmasından dolayı plevral iğne biopsisi zordur ve mezotelyomalı vakaların % 79'unda (57 olgunun 45'inde) yanlış sonuca varılmıştır (100). Etiyolojisi belli olmayan bütün effüzyonlarda HA'in pozitif olması, torakotomi, torakoskopi, loperotomi gibi invaziv yöntemlerle tanı koymada klinisyenleri uyarmaktadır (4).

Kıkırdak ve bağ dokusunun biyokimya, immunoloji, fizyopatoloji içindeki incelenmesi, son 17 senede proteoglikanlar hakkında geniş bir bilgi sağlamıştır. Kıkırdağın biyofiziği ve yapısının anlaşılmasıyla paralel olarak kıkırdak proteoglikanları ve onların sinovial sıvı ve serumdaki örnekleri için son zamanlarda spesifik metodlar geliştirilmiştir (101, 102, 103, 104). Bu yöntemler kemik, bağ ve yumuşak doku hastalıklarındaki yıkım ve GAG üretimindeki lokal bozukluğun ortaya çıkarılmasında büyük öneme sahiptir (18).

HA için geliştirilen immunometrik yöntemler, kısmen GAG'lar üzerine ilgiyi yoğunlaştırmakta ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonun birçok faktör tarafından etkilendiği görülmektedir. Ayrıca vücut sıvılarındaki çeşitli HA konsantrasyonlarının ölçülmesi, hastalıkların geniş bir aralığını yansıtmaktadır (58). İnflamatuar artropatilerin, karaciğer ve böbrek hastalıklarının, sistemik sklerozların ve kanserlerin tanısında vücut doku ve sıvılarında (sinovial sıvı, plazma, idrar) HA'nin ölçümü kullanılabilir (105, 106, 107, 108, 109). HA çeşitli metodlarla ölçülmektedir fakat, çoğu hassas olmayan yöntemlerdir (2, 3, 24, 25, 26, 97). Bunlardan en eskisi heksouronik asit ölçülmesi için kullanılan modifiye karbozal yöntemidir. Bu yöntem kolorimetrik yöntemdir (110, 111, 112, 113, 114, 115). Ancak HA diğer GAG'lardan tamamen ayrıştırılamadığı için spesifik değildir (84, 116). Daha sonra geliştirilen yöntemlerde total GAG'lar setilpridinyum klorür ile çöktürülmekte ve elde edilen çökelek tekrar çözülüp, GAG'lar elektroforezle ayrıştırılarak HA miktarı ölçülmektedir (97, 117, 118, 119, 120) veya diğer alternatif bir yöntemde olduğu gibi serum polianyonlarına setilpridinyum klorürün bağlanması ve laser nefelometresiyle kompleksin miktarının ölçülmesine dayanmaktadır. Streptomyces hiyaluronidaz enzimi ile parçalanmadan önce ve sonra serumdaki setilpridinyum kompleksinin ölçümü, HA miktarının tayinine olanak sağlanmaktadır (121).

Son yıllarda ise HA'in tayini için iki tane spesifik metod geliştirilmiştir. Bunlardan biri kromatografik yöntem olan ve HA'i diğer GAG'lardan kolayca ayırıştırabilen High Performance Liquid Chromatography (HPLC) tekniği (2, 4, 17, 18, 122, 123) diğeri ise Radioimmunoassay yöntemidir. Radioimmunoassay yöntem, hiyaluronektin (HN) olarak adlandırılan, sığır kıkırdağındaki ve insan beynindeki proteinlere bağlı HA'in izolasyonu temeline dayanır (24). Laurent ve Tengblad tarafından geliştirilen bu yöntem de, protein bağlayan sığır kıkırdağındaki HA (^{125}I ile etiketlenmiş) farklı miktarlardaki serbest HA ile inkübe edilmekte ve HA'in serbest miktarı sepharose jele bağlanmakta. Bağlanma proteini serbest ve bağlı polisakkarit arasındaki ayrışmaya izin vermekte. Jel ile çöktürülmüş radyoaktivitenin miktarı örnekteki serbest HA'in miktarını göstermektedir (26). Bu yöntem Pharmacia AB tarafından ticari kit halinde geliştirilmiştir (85). Nanogram düzeyde HA ölçebilmektedir. Çalışma aralığı 4-500 $\mu\text{g/l}$ ve CV: %10'dur. HPLC için sensitivite %93, spesifite %100, Radioimmunoassay yöntem için sensitivite %73, spesifite % 90 olarak saptanmıştır (4, 20).

Bu yöntemler yardımı ile plevral sıvı analizi mezotelyoma şüphesini ortadan kaldırmak için yararlı olacaktır, çünkü sitolojik sonuçlar malign mezotelyomayı diğer kanser türlerinden ayırmada daha az güvenilir (125, 126). İmmunohistokimyasal yöntem, tümör ve plevrayı ikincil olarak tutan vakalar ile mezotelyomayı ayırtetmede yardımcı olabilir (127, 128). Epitel ve bifazik tümör tiplerinde, elektron mikroskopunda plevral effüzyondaki hücre kümeleri kolay görülmekte, kesin sonuç vermektedir, fakat oldukça pahalı bir yöntem olması, diğer teşhis ölçümlerinin hatalı olması teşhisin doğruluğunu kısıtlamaktadır (21).

Sonuç olarak malign mezotelyomanın yaygın olduğu yöremizde,

hastalığın ayırıcı tanısında HA'in ölçümü önem taşımaktadır. Bu test malign mezotelyoma için Tukey prosedürüne göre $F=48,98$ $P<0,0001$ olarak bulunmuştur. Malign mezotelyoma teşhisinin bazen güçlüklerle yapıldığı durumlarda HA ölçümünün glukoz, laktat, lizozim, β_2 mikroglobulin, adenozin deaminaz ve plevra sıvısının bütün bileşenleri ile birlikte göz önüne alınması tanıya varmada kolaylık sağlayacaktır (129, 130, 131). Bu hastalarda erken teşhisle birlikte, gerekli olan cerrahi müdahaleye ve etkili kemoterapiye böylece erken başlanabilecektir (99, 100).

ÖZET

Ekim 1995- Şubat 1997 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Kardiyoloji Kliniğinde yatmakta olan, 17-92 yaş grubu arasındaki plevral effüzyonlu 19'u kadın, 36'sı erkek toplam 55 hastanın plevra sıvılarında hiyaluronik asit (HA) düzeyleri ölçüldü. Bu hastaların 21'i malign mezotelyoma 15'i akciğer kanseri, 14'ü tüberküloz plörezi, 5'i ise konjestif kalp yetmezliği idi.

Malign mezotelyomada plevra sıvısı HA düzeyi, akciğer kanseri ve konjestif kalp yetmezliğine göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla, 1676,33 µg/l, 454,263 µg/l, 9,435 µg/l, $P<0,0001$). Malign mezotelyoma ile tüberküloz plörezili olguların plevral HA düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamasına ($P>0,05$) rağmen Tukey Procedure'ne göre plevral HA düzeyi malign mezotelyomada diğer effüzyonlara göre anlamlı olarak yüksekti ($F=48,94$, $P<0,0001$).

Malign mezotelyomanın yaygın olduğu yöremizde plevra sıvısındaki HA düzeyinin ölçümü, malign mezotelyomanın ayırıcı tanısında önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Malign Mezotelyoma, HA

SUMMARY

In this study the level of hyaluronic acid was determined in pleural fluid of 55 patients (19 females, 36 males) with pleural effusions of various etiology, between 17-92 ages, hospitalized in the Chest Diseases and Cardiology Department of Medical Faculty of Dicle University between October 1995-February 1997. Of these patients 21 were with malignant mesothelioma, 15 were with lung cancers, 14 were with tuberculous pleurisy and 5 were with congestive heart failure.

The concentration of pleural fluid hyaluronic acid (HA) was significantly higher in patients with mesothelioma than in those with lung cancers and congestive heart failure (1676,33 $\mu\text{g/l}$, 454,263 $\mu\text{g/l}$, 9,435 $\mu\text{g/l}$ respectively, $P<0,0001$). Although there was no significant difference between malignant mesothelioma and tuberculous pleurisy ($P>0,05$) according to Tukey Procedure the concentration of pleural fluid HA was significantly higher in mesotheliomas than in those with nonmalignant mesotheliomas (lung cancers, tuberculous pleurisy, congestive heart failure) ($F=48,94$, $P<0,0001$).

The determination of pleural fluid HA might be valuable for differentiating malignant mesothelioma from other pleural effusions which is the common district.

Key Words: Malignant Mesothelioma, HA

KAYNAKLAR

- 1 - **Wagner, J.C., Sleggs, C.A., Marchand, P.:** Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape province. *Br J. Ind. Med.* 17: 260-271, 1960.
- 2 - **Hjerpe, A.:** Liquid-Chromatographic determination of hyaluronic acid in pleural and ascitic fluids. *Clin. Chem.* 32/6 : 952-956, 1986.
- 3 - **Nurminen, M., Dejmek, A., Martensson, G., Thylen, A., Hjerpe, A.:** Clinical Utiliyt of Liquid-Chromatographic Analysis of Effusions for hyaluronate content. *Clin. Chem.* 40/5 : 777-780, 1994.
- 4 - **Roboz, J. Greaves, J., Silides, D., Chahinian, P.A., Holland, J.F.:** Hyaluronic acid content of effusions as a diagnostic aid for malignant mesothelioma. *Cancer Res.* 45:1850-1854, 1985.
- 5 - **Yazıcıoğlu, S., İlçayto, R., Balcı, K., Özdemir, N., Yorulmaz, B., Çelik, T., Özercan, Y.:** Güneydoğu Anadolu Çevresel asbestosisle bağlı endemik olarak görülen plevra kalsifikasyonu ve mezotelyoma vakaları. *Cerrahpaşa Tıp Fak. Derg.* 11:354-361, 1980.
- 6 - **Elmes, P.C., Simpson, M. J. C.:** The clinical aspects of mesothelioma. *QJ Med.* 45: 427-449, 1976.
- 7 - **Chahinian, A.P., Pajak, T., Holland, J.F., Norton, L., Ambinder, R., Mandel, E.:** Diffuse malignant mesothelioma: prospective evaluation of 69 patients. *Ann. Intern. Med.* 96: 746-755, 1982.

- 8 – **Adams, V.I., Unni, K.K., Muhm, J. R., Jett, J.R., Ilstrup, D.M., Bernartz, P., E.:** Diffuse malignant mesothelioma of pleura: Diagnosis and survival in 92 cases. *Cancer*, 58: 1540-1551, 1986.
- 9 – **Meyer, K., Chaffe, E.:** Hyaluronic acid in the pleural fluid associated with a malignant tumor involving the pleura and peritoneum. *J. Biol. Chem.* 133: 83-91, 1940.
- 10 – **Blix, G.:** Hyaluronic acid in the pleural and peritoneal fluids from a case with mesothelioma. *Acta. Soc. Med. Ups.* 56: 47-50, 1951.
- 11 – **Kataoka, H., Wikström, B., Klominek, J., Gay, R.E., Gay, S., Hjerpe, A.:** Immunocytochemical demonstration of collagens type I and IV in cells isolated from malignant mesothelioma and in lung cancer cell lines. *Lung Cancer*, 6: 16-27, 1990.
- 12 – **Harigton, J.S., Wagner, J.C., Smith, M.:** The detection of hyaluronic acid in pleural fluids of cases with diffuse pleural mesothelioma. *Br. J. Exp. Pathol.* 44: 81-83, 1972.
- 13 – **Havez, R., Degand, P., Boersma, A., Richet, C.:** Detection and estimation of hyaluronic acid in the pleural fluid of mesothelioma. *Clin. Chim. Acta.* 33: 443-54, 1971.
- 14 – **Aalto, M., Kulonen, E., Penttinen, R., Renwall, S.:** Collagen Synthesis in cultured mesothelial cells. *Acta. Chir. Scand.* 147: 1-6, 1981.
- 15 – **Harvey, W., Amlot, P, L.:** Collagen production by human mesothelial cells in vitro. *J. Pathol.* 139: 337-47, 1983.
- 16 – **Kennedy, J.:** Proteoglycans, Biological and Chemical Aspects in Human Life Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1979.

- 17- **Payan, E.**, Jouzeau, J.Y., Lopicque, F., Muller, N., Payan, J.P., Gegout, P., Bertin, P., Netter, P.: Assay of synovial fluid hyaluronic acid using high-performance liquid chromatography of hyaluronidase digests. *Journal of Chromatography* 566: 9-18, 1991.
- 18- **Cooper, E. H.**, Rathbone, B.J.: Clinical significance of the immunometric measurements of hyaluronic acid. *Ann. Clin. Biochem.* 27:444-451, 1990.
- 19- **Chiu, B.**, Churg, A., Tengblad, A., Pearce, R., Mc Caughey, W.T.E.: Analysis of hyaluronic acid in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Cancer* 54:2195-2199, 1984.
- 20- **Petterson, T.**, Frøseth, B., Riska, H., Klockars, M.: Concentration of hyaluronic acid in pleural fluid as a diagnostic aid for malignant mesothelioma. *Chest*, 94: 1037-39, 1988.
- 21- **Martensson, G.**, Thylen, A., Ulla, L., Hjerpe, A.: The sensitivity of hyaluronan analysis of pleural fluid from patients with malignant mesothelioma and a comparison of different methods. *Cancer*, 73: 1406-1410, 1994.
- 22- **Legha, S.S.**, Muggia, F.M.: Pleural mesothelioma: Clinical features and therapeutic implications. *Ann. Intern. Med.* 87: 613-621, 1977.
- 23- **Abelanet, R.**, Jagueux M., Fondimare, A., Roujeau, J.: Les mesotheliomes pleuraux: Morphologie, histocytochimie, difficultés diagnostiques problèmes, nosologiques. *Revue Française des Maladies Respiratoires*, 7: 243-264, 1979.
- 24- **Thompson, M.E.**, Bromberg, P.A., Amenta, J.S.: Acid mucopoly-

- saccharide determination: a useful adjunct for the diagnosis of malignant mesothelioma with effusions. *Am. J. Clin. Pathol.* 52: 335-339, 1969.
- 25- **Friman**, C., Hellström, P.E., Juvani, M., Riska, H.: Acid glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) in the differential diagnosis of pleural effusion. *Clin. Chim. Acta.* 76: 357-61, 1977.
- 26- **Laurent**, U.B.G., Tengblad, A.: Determination of hyaluronate in biological samples by a specific radioassay. *Acta Biochem.* 109: 386-94, 1980.
- 27- **Arai**, H., Kang, K.Y., Sata, H.: Significance of the quantification and demonstration of hyaluronic acid in tissue specimens for the diagnosis of pleural mesothelioma. *Am. Rev. Resp. Dis.* 120: 529-32, 1979.
- 28- **Jacob**, W.S., Francone, C.A., Lossow, W.J. Structure and function in Man. W.B. Saunders Company. 452, 1982.
- 29- **Balcı**, K.: Göğüs Hastalıkları, Nobel Tıp Kitapevi Yayınları, 2. Baskı, İstanbul, 5-8, II, 36, 364, 377-378, 1991.
- 30- **Fishman**, P.A. : Pulmonary Diseases and Disorders. Mc. Grow Hill Book Company, second Edition, vol 1: 11, 1988.
- 31- **Coleman**, M.S., Danton, M.J., Philips, A.: Adenosine Deaminase and Immune Dysfunction; Biochemical correlates Defined by Molecular Analysis throughout a Disease Course. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 451: 54-65, 1985.
- 32- **Snell**, R.S.: Anatomy for Medical Students Little Brown and Company, Boston/Toronto, 93: 1984.

- 33- **Abaoğlu, C., Aleksanyan, V.:** Semptomdan teşhise; Fizik kitapevi yayınları, 8. Baskı, İstanbul, 897-901, 1980.
- 34- **Akkaynak, S.:** Solunum Hastalıkları, Güneş Kitapevi Yayınları, 4. baskı, Ankara, 326, 1988.
- 35- **Piras, M.A., Gakis, C.:** Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity in tuberculous menengit. Enzyme. 14: 311, 1973.
- 36- **Martinez-Vasquez, J.M., Ocana, I., Ribera, E., Segura, R.M., Pascuol, C.:** Adenoine Deaminase activity in the diagnosis of tuberculous peritonits: Gut. 27: 1049-1053, 1986.
- 37- **Ekim, N.N., Uzunoğlu, Z., Türkoçkan, N.:** Adenosine Deaminase in the Diagnosis of pleural Effusions. Gazi Med. Journal. 2: 71-74, 1991.
- 38- **Fishman, P.A.:** Pulmonary diseases and disorders. Mc Graw-Hill Book Company, Second edition, Vol: 3, 2143-2144, 1988.
- 39- **Gazioğlu, Kuddusi:** Akciğer hastalıkları, cilt 2. Tekofset Matbaası, İstanbul, 707-771, 1978.
- 40- **Balcı, K.:** Göğüs Hastalıkları Cilt 2. Ayyıldız Matbaası, Ankara. 201-210, 1978.
- 41- **Yenel, F., Sözer, K., Erk, M.:** Akciğer Hastalıkları Ders kitabı. 2. Baskı Kral Matbaası, İstanbul. 1987.
- 42- **Vidinel İlhan:** Akciğer hastalıkları, Ege Üniv. Basım Evi, İzmir. 377-387, 1993.
- 43- **Andreoli, T.E., Bennet, C.J., Carpentel, C.J., Plum, F., Smith, L.H.:** Cecil Esentials of Medicine. W.B. Saunders Company

- Philadelphia, 34-37, 306-309, 317-320, 678, 1993.
- 44- **Öbek**, A., Bayındır, Ü., Pinç, İ., Kılıçturgay, K., Tunalı, A., Demiroğlu, C., Hatemi, H., Urgancıoğlu, İ., Yazıcıoğlu, N. :İç hastalıkları, 651-653, 662-665, 1990.
- 45- **Yenson**, M.: İnsan Biyokimyası, İstanbul Üniv. Basımevi, 4. Baskı, İstanbul, 158, 1981.
- 46- **Robert**, K., Muray, M. D.: Harper's Biochemistry 640, 1993.
- 47- **Bhagavan**, N.W. : Medical Biochemistry. Jones and Bartlett Publishers, London, 339, 1992.
- 48- **Leninger**, A., Nelson, L. D., Cox, M.M. :Principles of Biochemistry. Worth Publishers, 2. Edition, New York, 308-314, 1993.
- 49- **Tengblad**, A., Laurent, U.BG., Lilja, K. :Concentration and relative molecular mass of hyaluronate in lymph and blood. Biochem. J. 236: 521-5, 1986.
- 50- **Prehm**, P.: Synthesis of hyaluronate in differentiated teratocarcinoma cells: Mechanism of chain growth. Biochem. J. 21: 191-8, 1993.
- 51- **Orkin**, R.W., Knudson, W., Toole, B.P. :Loss of hyaluronate-dependent coat during myoblast fusion. Devl. Biol. 107: 527-530, 1985.
- 52- **Tammi**, R., Ripellino, J.A., Margolis, R.U., Tammi, M.: Localization of epidermal hyaluronic acid using the hyaluronate binding region of cartilage proteoglycan as a specific marker. J. Invest. Dermatol. 90: 412-414, 1988.

- 53- **Mian, N.** :Analysis of cell-growth-phase-related variations in hyaluronate synthase activity of isolated plasma-membrane fractions of cultured human skin fibroblasts. *Biochem. J.* 237: 333-342, 1986.
- 54- **Brecht, M., Mayer, U., Schlosser, E., Prehm, P.**: Increased hyaluronate synthesis is required for fibroblast detachment and mitosis. *Biochem J.* 239: 445-450, 1986.
- 55- **Castor, C. W., Ragsdale, C.G., Cabrol, A.R., Smith, E.M., Aaron, B.P.**: Anabolic and catabolic responses of human articular cells to growth factors. *J. Rheumatol.* 14: 67-69, 1987.
- 56- **Castor, C.W., Cabral, A.R., Ragsdale, C.G., Walz, D.A., Hossler, P.A.**: Growth factors as mediators of extracellular matrix synthesis and degradation in man. *Protides biol. Fluids.* 34: 247-250, 1986.
- 57- **Yaron, I., Meyer, F.A., Dayer, J.M., Yaron, M.**: Human recombinant interleukin-1B stimulates glycosaminoglycan production in human synovial fibroblast cultures. *Arthr. Rheum.* 30: 424-430, 1987.
- 58- **Laurent, T.Z., Fraser, J.R.E.**: The properties and turnover of hyaluronan. In: **Evered, D., Whelon, J.** eds. *Function of the proteoglycans: Ciba Foundation symposium, Vol. 124.* Chichester: Wiley. 9-29, 1986.
- 59- **Laurent, U.B.G., and Laurent, T.C.**: On the origin of hyaluronate in blood. *Biochem. Int.* 2: 195-199, 1981.
- 60- **Höllgren, R., Eklund, A , Engström-Laurent, A. Schmekel, B.** :Hyaluronate in bronchoalveolar lavage fluid: a new marker in sarcoidosis reflecting pulmonary disease. *Br. med. J.* 290: 1778-1781, 1985.

- 61- **Dahl**, L., Hapwood, J.J., Laurent, U.B.G., Lilja, K., Tengblad, A.: *Biochem. Med.* 30: 280-283, 1983.
- 62- **Engström-Laurent**, A., Laurent, U.B.G., Lilja, K., Laurent, T.C. : Concentration of sodium hyaluronate in serum. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 45: 497-504, 1985.
- 63- **Laurent**, T.C., Lilja, K., Brunnberg, L., Engström-Laurent, A., Laurent, U.B.G., Lindgvist, U., Murata, K., Ytterberg, D. : Urinary excretion of hyaluronan in man. *scand. J. clin. Lab. Invest.* 47: 793-799, 1987.
- 64- **Sundblad**, L.: In *The Amino Sugars* (Eds R., Jeanloz, E.A. Balazs), Academic Press, Vol IIA, New York and London, 229-250, 1965.
- 65- **Reed**, R.K., Lilja, K., Laurent, T.C.: Hyaluronan in the rat with special reference to the skin. *Acta. Physiol. Scand.* 134:405-411, 1988.
- 66- **Toole**, B.P., Goldberg, R.L., Chi-Rosso, G., Underhill, C.B., Orkin, R.: Hyaluronate-cell interactions. In *the Role of Extracellular Matrix in Development* (Ed. R. L. Tre Isted) A.R. Liss. Inc. New York, 43-46, 1984.
- 67- **Campbel**, R.D., Love, S.H., Whiteheart, S.W., Young, B., Myrvik, Q.N.: Increased hyaluronic acid is associated with dermal delayed type hypersensitivity. *Inflammation*, 6:235-244, 1982.
- 68- **Shannon**, B.T., Love, S.H., Roh, B.H., Schroff, R.W.: Quantitation of glycosaminoglycans of rabbit lung during delayed-type hypersensitivity reactions and granuloma formation. *Inflammation*, 5: 323-334, 1981.

- 69- **Lindgvist, U., Engström-Laurent, A., Laurent, U, Nyberg, A., Björklund, U., Eriksson, H., Pettersson, R., Tengblad, A.:** Scand. J. Clin. Lab. Invest. 48: 765-770, 1988.
- 70- **Engström-Laurent, A., Höllgren, R.:** Arthr. Rheum. 30: 1333-1338, 1987.
- 71- **Antonias, K.A., Fraser, J.R.E. Muirden, K.D. :** Distribution of biologically labelled radioactive hyaluronic acid injected into joints. Ann. Rheum. Dis. 32: 103-111, 1973.
- 72- **Fraser, J.R.E., Appelgren, L.E., Laurent, T.C.:** Tissue uptake of circulating hyaluronic acid. A whole body autoradiographic study. Cell Tiss. Res. 233: 285-293, 1983.
- 73- **Fraser, J.R.E., Kimpton, W.G., Laurent, T.C., Cahill, R.N.P., Vakakis, N.:** Biochem. J. 256: 153-158, 1988.
- 74- **Roden, L. :** Structure and metabolism of connective tissue proteoglycans. In The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans (Ed. W.J. Lennarz) Plenum Publishing corp. New York. 267-371, 1980.
- 75- **Eriksson, S., Fraser, J.R.E., Laurent, T.C., Pertoft, H., Smedsrod, B.:** Endothelial cells are a site of uptake and degradation of hyaluronic acid in the liver. E x pl. cell. Res. 144: 223-228, 1983.
- 76- **Smedsrod, A., Pertoft, H., Eriksson, S. Fraser, J.R.E., Laurent, T.C.:** Studies invitro on the uptake and degradation of sodium hyaluronate in rat liver endothelial cells. Biochem. J. 223: 617-626, 1984.
- 77- **Fraser, J.R.E., Alcorn, D., Laurent, T.C., Robinson, A.D., Ryan,**

G.B.: Uptake of circulating hyaluronic acid by the rat liver. *Cell Tiss. res.* 242: 505-210, 1985.

- 78- **Bollet**, A.J., Bonner, W.M.Jr, Nance, J.L. : The presence of hyaluronidase in various tissues. *J. Biol. Chem.* 238: 3522-3527, 1963.
- 79- **Fraser**, J.R.E., Laurent, T.C., Pertoft, H., Baxter, E.: Plasma clearance, tissue distribution and metabolism of hyaluronic acid in the rabbit. *Bio'chem. S.* 200: 415-424, 1981.
- 80- **Fraser**, J.R.E., Laurent, T.C., Engström- Laurent, A., Laurent, U.B.G.: Elimination of hyaluronic acid from the blood stream in the human. *Clin. exp. Pharm. Physiol.* 11:17-25, 1984.
- 81- **Henriksen**, J.H., Bentsen, K.D., Laurent, T.C.: Splanchnic and renal extraction of circulating hyaluronan in patients with alcoholic liver disease. *J. Hepatol.* 6:158-166, 1988.
- 82- **Laurent**, U.B.G., Fraser, J.R.E.: Turnover of hyaluronate in the aqueous humour and vitreous body of the rabbit. *Exp. Eye Res.* 36: 493-504, 1983.
- 83- **Laurent**, U.B.G., Fraser, J.R.E., Laurent, T.C. : An experimental technique to study the turnover of concentrated hyaluronan in the anterior chamber of the rabbit. *Expl. Eye Res.* 46: 49-58, 1988.
- 84- **Tengblad**, A. : Quantitative analysis of hyaluronate in nanogram amounts. *Biochem. J.* 185: 101-105, 1980.
- 85- **Brandt**, R., Hedlöf, E., Asman, I., Bucht, A., Tengblad, A.: A convenient radiometric assay for hyaluronan. *Acta Otolaryngol* 442: 31-35, 1987.

- 86- **Nakano, T.** Fuji, J., Tamura, S., Amuro, Y., Nabeshima, K., Horal, T., Hada T., Higashino, K.: Glycosaminoglycan in malignant pleural mesothelioma. *Cancer*, 54: 106-110, 1986.
- 87- **Boersma, A.**, Degand, P., Biserte, G., Havez, R.: Apport de la recherche de l'acide hyaluronique dans le diagnostic des mesatholeiomes pleuraux: Etude de 100 liquides a acid hyaluronique. *Biomedicine*. 22:428-432, 1975.
- 88- **Boersma, A.**, Degand, P., Biserte, G., Havez, R. : Aport de la recherche de l'acide hyaluronique dans le diagnostic des mesotheliomes pleuroux: Etude de 135 liquides a acid hyaluronique. *Rev. Fr. May, Respir (Suppl 2)* 4: 105-110, 1976.
- 89- **Boersma, A.**, Degand, P., Biserte, G. : Hyaluronic acid analysis and the diagnosis of pleural mesothelioma. *Bull, Europ. Physiopathal Respir*. 16: 41-45, 1980.
- 90- **Matzel, W.**: Parameter klinischer diagnostik diffuser pleuramesothelioma : Zytologie, Weltmannband, Hyaluronsäure-bestimmung. *Z. Erkrank Atmungsorgane*, 155: 133-139, 1980.
- 91- **Matzel, W.**, Schubert, G. : Bestimmung des hyaluronsäure-Gehaltes von pleuraergüssen als parameter klinischer diagnostik diffuser mesotheliome. *Arch. Geschwulstforsch*, 49: 146-154, 1979.
- 92- **Rosmussen, K.N.**, Faber, V.: Hyaluronic acid in 247 pleural fluids. *Scand. J. Resp. Dis*. 48: 366-371, 1967.
- 93- **Roboz, J.**, Greaves, J., Silides, D., Chahinian, A.P., Holland, J.F. : Quantification of intact hyaluronic acid in pleural and peritoneal fluids from mesothelioma by size exclusion high per-

formance liquid chromatography. Proc. Am. Assoc. Clin. Res. 124: 489, 1983.

- 94- **Wagner J.C.**, Munday, D.E., Harington, J.S.: Histochemical demonstration of hyaluronic acid in pleural mesotheliomas. J. Pathol. 84:73-78, 1962.
- 95- **Yaron, M.**, Costor, C. W. : Leukocyte-connective tissue cell interaction: I stimulation of hyaluronate synthesis by live and dead leukocytes. Arthritis Rheum. 12: 365-374, 1969.
- 96- **Knudson, W.**, Biswas, C., Toole, B.P. : Interactions between human tumor cells and fibroblasts stimulate hyuloronate synthesis. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 81: 6767-6771, 1984.
- 97- **Waxler, B.**, Eisentstein, R., Battifora, H. : Electrophoresis of tissue glycosaminoglycans as an aid in the diagnosis of mesotheliomas. Cancer, 44: 221-227, 1979.
- 98- **Kawai, T.**, Suzuki, M., Shinmei, M., Maenaka, Y., Kageyama, Y, K. : Glycosaminoglycans in malignant diffuse mesothelioma. Cancer, 56: 567-674, 1985.
- 99- **Chahinian, A.P.** : Therapeutic modalities in malignant pleural mesothelioma In: J. Chretien and A. Hirsch (eds). Diseases of the pleural, pp. 224-236. New York: Masson Publishing USA, Inc. 1983.
- 100- **Chahinian, A.P.**, Holland, J.F. : Treatment of diffuse malignant mesothelioma: a review. Mt. Sinai J. Med. 45: 54-67, 1978.
- 101- **Caterson, B.**, Christner, J.E., Baker, J.R. : Identification of a

- monoclonal antibody that specifically recognises corneal and skeletal keratan sulfate. *J. Biol. Chem.* 258: 8848-8854, 1983.
- 102- **Heingard**, D. Inerat, S., Wieslander, J. et al. : A method for the quantification of cartilage proteoglycan structures liberated into the synovial fluid during developing degenerative joint disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 45: 421-427, 1985.
- 103- **Thonar**, E.J.M.A., Lenz, M.E., Klintworth, G.K., et al.: Quantification of keratan sulfate in blood as a marker of cartilage catabolism. *Arthritis Rheumat.* 28: 1367-1376, 1985.
- 104- **Risteli**, L., Risteli, J. : Analysis of extracellular matrix proteins in biological fluids. In: Cunningham LW, ed. *Methods in Enzymology*, vol 145. New York. : Academic Press, 391-411, 1987.
- 105- **Engström-Laurent**, A., Höllgren, R.: Circulating hyaluronate in rheumatoid arthritis: relationship to inflammatory activity and the effect of corticosteroid therapy. *Ann. Rheum. Dis.* 44: 83-88, 1985.
- 106- **Frebourg**, T., Delpech, B., Bercoff, E., Senant, J., Bertrand, P., Deugnier, Y., Bourreille, J. : Serum hyaluronan in liver diseases: Study by enzymeimmunoassay. *Hepatology*, 6: 392-395, 1986.
- 107- **Hällgren**, A., Engström-Laurent, A., Nisbeth, U.L.F. : *Nephrology*. 46: 150, 1985.
- 108- **Engström-Laurent**, A., Feltelius, N., Hällgren, R., Wasteson, A. : Raised serum hyaluronate levels in scleroderma: an effect of growth factor induced activation of connective tissue cells. *Ann. Rheum. Dis.* 44: 614-620, 1985.

- 109- **Delpech**, B., Bertrand, P., Maingonnat, C. : Immuno-enzmoassay of the hyaluronectin interaction: application to the detection of hyaluronic acid in serum of normal subjects and cancers patients. *Analyt. Biochem.* 149: 555-565, 1985.
- 110- **Bitter**, T., Muir, H. : A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal. Biochem.* 4: 330-334, 1962.
- 111- **Blumenkrantz**, N., Asboe-Hansen, G., *Anal. Biochem.* 54: 484, 1973.
- 112- **Dische**, Z. : a new specific colour reaction of hexuronic acid. *J. Biol. chem.* 167: 189-198, 1947.
- 113- **Elson**, L.A., Morgan, W.T.J.: Colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrasamine. *Biochem. J.* 27: 1824-1828, 1933.
- 114- **Reissig**, J.L., Strominger, J.L., Le Loir, L. F. *J. Biol. Chem.* 217: 959, 1955.
- 115- **Jouradian**, G.M., Wolfman, M., Sarber, R., Distler, J. *Anal Biochem.* 96: 474, 1978.
- 116- **Orvisky**, E., Kery, V., Stancikova, M. : Specific high performance liquid chromatographic determination of the molecular weiht and concentration of hyaluronic acid in complex mixtures by labelled hyaluronate binding proteins. *Biomedical chromatography* 5: 251-255, 1991.
- 117- **Scott**, J.E., Newton, D.J.: The recovery and characterisation of acid glycosaminoglycans in normal human urine. *Connect Tiss. Res.* 3: 157-164, 1975.

- 118- **Breen**, M., Weinstein, H.G., Black, L.J. et al. : Microanalysis and characterization of acidic glycosaminoglycans in human tissues
In: Whistler, R.L., Miller, J.N., eds. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol 7. New York: Academic Press 101-115, 1976.
- 119- **Larsson**, S.E., Ray, R. D., Kucttner, K.E.: Biochemical studies on acid glycosaminoglycans of epiphyseal zones during endochondral calcification. *Connect. Tiss. Res.* 13: 271-185, 1973.
- 120- **Seno**, N., Anno, K., Kondo, K., Nagase, S., Saito, S.: Improved method for electrophoretic separation and rapid quantitation of isomeric chondroitin sulfates on cellulose acetate Strips. *Anal. Biochem.* 37: 197-202, 1970.
- 121- **Warren**, C., Manley, G.: Measurement of serum glycosaminoglycans by laser nephelometry. *ElSevier/ North-Holland Biomedical Press* 116: 369-380, 1981.
- 122- **Murata**, K., Yokoyama, Y.: Liquid chromatographic assay for constituent disaccharides of hyaluronic acid and chondroitin sulphate isomers. *Journal of Chromatography.* 415: 231-240, 1987.
- 123- **Murata**, K., Yakoyama, Y. : Analysis of hyaluronic acid and Chondroitin by high-performance liquid chromatography of the constituent disaccharide units. *Journal of Chromatography* 374: 37-44, 1986.
- 124- **Tengblad**, A.: Affinity chromatography on immobilized hyaluronate and its application to the isolation of hyaluronate binding proteins from cartilage. *Biochim Biophys Acta.* 578: 281-289, 1979.
- 125- **Martensson**, G. : Diagnosing malignant pleural mesothelioma. *Eur. Respir J.* 3: 985-986, 1990.

- 126- **Younger, W.B.R., Mark, E.J.** : A 50 years-old man with recurrent pleuropulmonary abnormalities: Case records of the Massachusetts General Hospital. *N Engl J. Med.* 316: 198-208.
- 127- **Guzman, J., Bross, K., Würtamberger, G., Castabel, U.** : Immunocytology in malignant pleural mesothelioma. *Chest*, 95: 590-595, 1989.
- 128- **Hoogsteden, H.C., Van der Kwast, T.H., Versnel, M.A., Delahaye, M., de Jong, A., Zondervan, P.E.** : Expression of epithelial membrane antigen on malignant mesothelioma cells: an immunocytochemical and immunoelectron microscopy study. In: Stam, J., Siebelink, J., Vanderschueren, R., Wagenaar, J., editors.: *The lung and the environment. Abstracts of the sixth congress of the European Society of Pneumology (SEP), Amsterdam, September 1987.* Deen Hague, Holland: CIP-Gegevens Koninklijke Bibliotheek, 1, 1987.
- 129- **Pettersson, T.**: Cellular immunity. In: Chretien, J., Bignon, J., Hirsch, A. eds. *The pleura in health and disease.* New York: Marcel Dekker Inc. 329-345, 1985.
- 130- **Gupta, D.K., Suri, J.C., Goel, A.**: Efficacy of adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *J. Chest*, 32/4: 205-208, 1990.
- 131- **Aguado, J.M., Pons, F.**: Adenosine deaminase and Tuberculous peritonitis. *The Lancet*, 3: 1260-1261, 1989.