

Akciğer Kanserinde Serum Total ve Lipide Bağlı Sialik Asit Düzeylerinde Yükselme ve Bunun Metastaz ile İlişkisi^[*]

Increased Serum Total and Lipid-Bound Sialic Acid Levels in Lung Cancers and its Association with Metastasis

Şebnem SELEN İŞBİLİR, Selma SÜER GÖKMEN, Tuncay ÇAĞLAR, O. Nuri HATİPOĞLU, Şendoğan GÜLEN

Amaç: Akciğer kanserli hastalarda total ve lipide bağlı sialik asit düzeylerinin, metastazı olan ve olmayan olguları birbirinden ayırmada bir belirteç olup olmayacağı araştırıldı.

Hastalar ve Yöntemler: Ekstrapulmoner metastazı olan ($n=26$; yaş dağılımı 44-79; 13 epidermoid karsinom, 7 adenokarsinom, 6 küçük hücreli akciğer kanseri) ve olmayan ($n=61$; yaş dağılımı 40-80; 27 adenokarsinom, 34 epidermoid karsinom) akciğer kanserli hastalarda serum total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri incelendi. Bulunan değerler sağlıklı 32 kişiden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Total sialik asit düzeyleri Warren yöntemi ile, lipide bağlı sialik asit düzeyleri Katopodis yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: Her iki hasta grubunun total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). Ekstrapulmoner metastazı olan akciğer kanserli hastalarda lipide bağlı sialik asit düzeyi, metastaz bulunan adenokarsinomlu ($p<0.05$) ve epidermoid karsinomlu ($p<0.01$) hastalara göre; total sialik asit düzeyi ise, epidermoid karsinomlu ($p<0.05$) hastalara göre anlamlı derecede daha yükseldi.

Sonuç: Serum lipide bağlı sialik asit düzeylerinin, metastazı olmayan epidermoid veya adenokarsinomlu hastaları ayırmada; total sialik asit düzeylerinin ise metastazı olmayan epidermoid karsinomlu hastaları ayırmada yardımcı olabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler: Lipid/kan; akciğer neoplazmları/tanı/kan; membran proteinleri/analiz; neoplazm metastazı; sialik asit/analiz; sialoglikoprotein/kan; tümör belirteçleri, biyolojik/kan.

Objectives: The aim of this study was to investigate whether total and lipid-bound sialic acid levels can be used as a tumor marker for distinguishing patients with or without extrapulmonary metastasis.

Patients and Methods: Serum total and lipid-bound sialic acid levels were examined in lung cancer patients with ($n=26$; age range 44 to 79 years; 13 epidermoid carcinoma, 7 adenocarcinoma, 6 small cell carcinoma) or without ($n=61$; age range 40 to 80 years; 27 adenocarcinoma, 34 epidermoid carcinoma) extrapulmonary metastasis. The results were compared with those of a control group of 32 healthy subjects. Serum total and lipid-bound sialic acid levels were determined by the methods of Warren and Katopodis, respectively.

Results: Significantly increased total and lipid-bound sialic acid levels were found in both patient groups ($p<0.001$). Patients with extrapulmonary metastasis had (i) significantly elevated lipid-bound sialic acid levels compared with patients having epidermoid carcinoma ($p<0.01$) and adenocarcinoma ($p<0.05$) without metastasis, and (ii) significantly elevated total sialic acid levels compared with patients with epidermoid carcinoma without metastases ($p<0.05$).

Conclusion: Serum lipid-bound sialic acid levels may be helpful in identifying epidermoid carcinoma or adenocarcinoma with no extrapulmonary metastases, and serum total sialic acid levels in identifying epidermoid carcinoma with no extrapulmonary metastases.

Key words: Lipids/blood; lung neoplasms/diagnosis/blood; membrane proteins/analysis; neoplasm metastasis; sialic acids/analysis; sialoglycoproteins/blood; tumor markers, biological/blood.

*XVI. Ulusal Biyokimya Kongresi'nde sunulmuştur (23-27 Ekim 2000, İzmir).

Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (İşbilir, Asist. Dr.); Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, (Gökmen, Doç. Dr.; Gülen, Prof. Dr.); Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı (Çağlar, Prof. Dr.; Hatipoğlu, Doç. Dr.).

İletişim adresi: Dr. Selma Süer Gökmen. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 22030 Edirne.

Tel: 0284 - 235 76 41 / 1618 Faks: 0284 - 235 15 64 e-posta: oner@turk.net

Sialik asitler, plazma membranlarının ve diğer hücre bileşenlerinin glikolipid ve glikoproteinlerinde bulunan neuraminik asidin asetilenmiş türevlerinden oluşan bir ailedir.^[1,2] Protein veya lipid kalıntılarına bağlı oligosakkartitlerde terminal şekerler olarak bulunan sialik asitlerin^[3] hücresel adhesyonaya katıldığı kabul edilir.^[4] Sialik asitler güçlü karboksil gruplarından (NANA için $pK_a=2.6$) dolayı hücre yüzeyine net negatif yük kazandırır;^[1,2] bu nedenle trombosit, eritrosit ve kanser hücrelerinde görülen elektrostatik itmeden sorumludur.^[4,5] Pek çok hücre yüzey reseptörünün temel bileşeni olarak da bulunan bu asitler, genellikle glikolipid ve glikoproteinlerin antijenik kısmını oluşturur.^[3] Makromoleküller yapı üzerinde de bazı etkileri vardır^[3] ve bu etki, bazı sialo-glikoproteinlerin proteolize dayanıklılığından sorumlu gibi görülmektedir.^[6]

Tümör hücrelerinin, normal hücrelere göre değişmiş yüzey özelliklerine sahip olduğu ve bu değişikliklerin kısmen, plazma membranı üzerindeki değişmiş sialo-glikokonjugatlardan kaynaklandığı bildirilmiştir. Değişime uğramış bu yüzeyler, hücrelerin davranışını ve metastaz özelliklerini etkiler. Malign hücrelerin yüzeyinde bulunan sialik asit miktarının hücre metastazı ile doğrudan ilişkili olabileceği bildirilmiştir.^[7,8]

Total ve lipide bağlı sialik asit düzeylerinin çeşitli kanser tiplerinde yükseldiği bildirilmiştir.^[9-13] Son yıllarda hormonlar, regülatör peptitler, fetal proteinler ve enzimler gibi akciğer tümörü ile ilişkili birkaç biyokimyasal belirteçin kanserli hastaların hem tanısında, hem de hastalığın ve tedaviye yanıtın izlenmesinde önemli olabileceği gösterilmiştir.^[14] Kanserin erken tanısı ve tümör metastazının saptanması, son zamanlarda gittikçe önem kazanmıştır.

Bu çalışmada, total ve lipide bağlı sialik asidin, metastazı olan ve olmayan hastaları birbirinden ayırmada bir belirteç olup olmayacağı ve metastazdaki rolü araştırıldı.

HASTALAR VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda

akciğer kanseri nedeniyle tedavi gören, ekstra-pulmoner metastazlı 26 hastanın (yaş dağılımı 44-79; 13 epidermoid karsinom, 7 adenokarsinom, 6 küçük hücreli akciğer kanseri) ve ekstra-pulmoner metastazı olmayan 61 hastanın (yaş dağılımı 40-80; 27 adenokarsinom, 34 epidermoid karsinom) serumları total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri yönünden karşılaştırıldı. Ayrıca, hasta gruplarının total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri, sağlıklı 32 bireyden (yaş dağılımı 45-71) oluşturulan kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Kontrol ve hasta gruplarından 12 saatlik açılıktan sonra alınan kanlar 30 dakika bekletildikten sonra, pihtılı örnek 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi; elde edilen serumlar ependorf tüplere konularak, analize dek -70°C'de bekletildi.

Serum örnekleri 0.1 N H_2SO_4 ile 80°C'de bir saat inkübe edilerek, bağlı sialik asitler hidroliz edildi; hidrolizatta, total sialik asit (TSA) düzeyleri Warren^[15] tarafından geliştirilen tiyobarbitürık asit yöntemi ile, lipide bağlı sialik asit (LSA) düzeyleri Katopodis ve ark.nın^[16] modifiye edilmiş yöntemi ile belirlendi.

Standart N-asetil neuraminik asidin (Sigma) 25, 50, 75 ve 100 mg/ml konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlanarak, standart grafigi elde edildi.

Kontrol ve hasta gruplarına ait parametrelerin istatistiksel analizleri için Student t-testi, hasta gruplarının kendi içindeki analizleri için tek yönlü ANOVA testi kullanıldı.

BULGULAR

Kontrol grubunun ve akciğer kanserli hastaların serum TSA ve LSA ortalamaları Tablo 1'de gösterildi. Serum TSA ve LSA düzeyleri, her iki hasta grubunda da kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p<0.001$).

Hasta gruplarının serum TSA ve LSA ortalamaları Tablo 2'de gösterildi. Serum TSA düzeyi, metastazı olan akciğer kanserli hasta grubunda, metastazı olmayan epidermoid karsinomlu hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek bulunurken ($p<0.05$); serum LSA düzeyi, metastazı olan akciğer kanserli hasta grubunda, ekstrapul-

moner metastazı olmayan epidermoid karsinomlu ($p<0.01$) ve adenokarsinomlu ($p<0.05$) olgulara göre daha yükseldi.

TARTIŞMA

Terminal durumda sialik asitlerin hücresel adhezyonda gerekli olduğu ve negatif yüzey yükleri nedeniyle trombosit, eritrosit ve kanser hücrelerindeki elektrostatik itmeden sorumlu oldukları kabul edilmektedir.^[17]

Sialik asitler diğer önemli biyolojik fonksiyonları da birçogunda rol oynarlar; bunlar arasında hücre yüzey reseptörlerinin pek çogunun bilesenlerini oluşturma;^[18,19] glikokonjugatların makromoleküler yapısını etkileme ve spesifik hücresel tanıma yerlerini örtme sayılabilir.^[20]

Serum TSA ve LSA düzeylerinin, akciğer kanseri de dahil,^[10,21-23] pek çok kanser türünde^[10,12,13] yükseldiği görülmüştür.

Çalışmamızda, serum TSA ve LSA düzeylerini ekstrapulmoner metastazı olmayan ve olan akciğer kanserli hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulduk ($p<0.001$).

Tümör hücre yüzeyinin hedef organdaki hücreler ile ve ekstrasellüler matriks ile etkileş-

mi, invazyon ve uzak metastaz gelişimi için önemlidir. Özellikle malign hücre yüzeyinde bulunan sialik asit miktarının metastaz ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir.^[7,24]

Çalışmamızda, metastazı olan akciğer kanserli hastalarda serum lipide bağlı sialik asit düzeyleri, metastazı olmayan epidermoid karsinomlu ve adenokarsinomlu hastalara göre daha yüksek bulundu. Serum total sialik asit düzeyleri ise metastazlı olgularda, metastazı olmayan epidermoid karsinomlu hastalara göre daha yüksek idi.

Serum lipide bağlı sialik asidin, primer akciğer kanserli ve metastatik kanserli hastalarda daha iyi bir belirteç olabileceği bildirilmiştir.^[25] Hücreler neoplastik değişime uğradığında gangliosid miktarında artış gözlenmesi,^[16] serum LSA düzeyinin yükseliş nedenini açıklayabilir.

Terminal sialik asit kalıtışı, oligosakkarid, glikoprotein ve gangliosidlerden sialidaz enzimle ayrılır.^[26] Sialik asit kalıtısının bir glikoproteinden uzaklaştırılması, glikoproteinin anti-jenik ekspresyonunu, reseptör tarafından tanıma özelliğini ve dolaşımındaki yaşam süresini etkileyebilir.^[5]

Tablo 1. Ekstrapulmoner metastazı olan ve olmayan akciğer kanserli hastalar ile kontrol grubunda serum total sialik asit ve lipide bağlı sialik asit ortalamaları

Grup	n	Total sialik asit (mg/dl)	Lipide bağlı sialik asit (mg/dl)
Akciğer kanserli olgular			
Ekstrapulmoner metastaz var	26	104.52±24.38*	50.53±10.99*
Ekstrapulmoner metastaz yok	61	93.13±18.48*	42.96±10.29*
Kontrol	32	51.69±6.15	18.95±2.89

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.001$.

Tablo 2. Ekstrapulmoner metastazı olan ve olmayan adenokarsinomlu ve epidermoid karsinomlu akciğer kanserli hastalarda serum total sialik asit ve lipide bağlı sialik asit ortalamaları

Grup	n	Total sialik asit (mg/dl)	Lipide bağlı sialik asit (mg/dl)
Ekstrapulmoner metastaz var	26	104.52±24.38	50.53±10.99
Ekstrapulmoner metastaz yok	61		
Adenokarsinom	27	96.91±15.59	44.45±8.10*
Epidermoid karsinom	34	90.13±18.58*	41.78±10.91**

(1) Ekstrapulmoner metastazı olanlar ile karşılaştırıldığında * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

Serum sialik asit düzeylerindeki artıştan, hücre membranlarında bulunan glikolipid ve glikoproteinlerin ucundaki terminal sialik asidin ayrılmasını katalizleyen sialidaz aktivitesindeki artış da sorumlu olabilir. Yapılan çalışmalarla, memeli sialidazının multipl formlarının ekspresyonunun karsinogenezde değiştiği bildirilmiş ve memeli kanserli hastalarda doku ve serum sialidaz aktivitesinde bir artış olduğu gösterilmiştir.^[27,28]

Sialik asit kalıntılarının asialoglikoproteinlerre transferini sağlayan sialyltransferazlar da, sialik asit düzeylerinin artmasından sorumlu olabilir. Yapılan birçok çalışmada, bazı kanser hastalarının serumlarında sialyltransferaz aktivitesi yüksek bulunmuştur.^[29,30]

Serum TSA ve LSA düzeylerinin yükselişi, sentez hızının artmasından veya hücre yüzey glikokonjugatlarının içerdiği aşırı sialik asidin spontan olarak saliverilmesinden kaynaklanıyor olabilir.^[31,32]

Bazı tümör hücreleri ve tümör spesifik抗jenlerinin sialik asit tarafından etkili biçimde gizlendiği ve transformasyona uğramış bu hücrelerin immünolojik ataktan kaçabildiği bildirilmiştir.^[24] Bu aşırı sialilasyon, malign hücrelerde gözlenen kontakt inhibisyon kaybının nedeni olabilir ve tümör hücrelerinin invazivliğini ve metastazını artırabilir.

Serum sialik asit konsantrasyonlarının kanserli hastalarda yükselmesinin bir nedeni de, sialik asit bakımından zengin alfa 1-asit glikoproteini ve alfa 1-antitripsin gibi akut faz proteinlerinin artmış atılımı olabilir.^[33,34]

Sonuç olarak, lipide bağlı sialik asit düzeylerinin, ekstrapulmoner metastazı olan hastaları metastazı olmayan epidermoid veya adenokarsinomlu hastalardan ayırmada; total sialik asit düzeylerinin ise ekstrapulmoner metastazı olan hastaları, metastazı olmayan epidermoid karsinomlu hastalardan ayırmada yardımcı olabileceğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Cook GM. Techniques for the analysis of membrane carbohydrates. In: Maddy AH, editor. Biochemical analysis of membranes. 1st ed. London: Wiley & Sons; 1976. p. 287-92.
2. Moss DW. Post-translationally modified forms of enzymes of diagnostic importance. In: Werner M, Goldberg DM, editors. Selected topics in clinical enzymology. 1st ed. Berlin: De Gruyter; 1984. p. 515-33.
3. Schauer R. Sialic acids and their role as biological masks. *Trends Biochem Sci* 1985;10:357-65.
4. Schauer R. Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. In: Stuart T, Horton D, editors. Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry. 1st ed. New York: Academic Press; 1982. p. 131-234.
5. Jeanloz RW, Codington JF. The biological role of sialic acid at the surface of the cell. In: Rosenberg A, Schengrund CL, editors. Biological roles of sialic acid. New York: Plenum Press; 1976. p. 201-38.
6. Aquino D, Wong R, Margolis RU, Margolis RK. Sialic acid residues inhibit proteolytic degradation of dopamine beta-hydroxylase. *FEBS Lett* 1980;112:195-8.
7. Passaniti A, Hart GW. Cell surface sialylation and tumor metastasis. Metastatic potential of B16 melanoma variants correlates with their relative numbers of specific penultimate oligosaccharide structures. *J Biol Chem* 1988;263:7591-603.
8. Yogeewan G. Cell surface glycolipids and glycoproteins in malignant transformation. *Adv Cancer Res* 1983;38:289-350.
9. Dwivedi C, Dixit M, Hardy RE. Plasma lipid-bound sialic acid alterations in neoplastic diseases. *Experientia* 1990;46:91-4.
10. Patel PS, Baxi BR, Balar DB. Significance of serum sialoglycoproteins in patients with lung cancer. *Neoplasma* 1989;36:53-9.
11. Patel PS, Raval GN, Rawal RM, Patel GH, Balar DB, Shah PM, et al. Comparison between serum levels of carcinoembryonic antigen, sialic acid and phosphohexose isomerase in lung cancer. *Neoplasma* 1995; 42:271-4.
12. Shamberger RJ. Evaluation of water soluble and lipid soluble sialic acid levels as tumor markers. *Cancer Res* 1986;6:717-20.
13. Süer S, Sönmez H, Karaaslan I, Baloğlu H, Kokoğlu E. Tissue sialic acid and fibronectin levels in human prostatic cancer. *Cancer Lett* 1996;99:135-7.
14. Statland BE, Winkel P. Neoplasia. In: Kaplan LA, Pesce AJ, editors. Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation. 3rd ed. St. Louis: Mosby; 1996. p. 983-1003.
15. Gökmen SS, Kılıçlı G, Özçelik F, Türe M, Gülen Ş. Association between serum total and lipid-bound sialic acid concentration and the severity of coronary atherosclerosis. *J Lab Clin Med* 2002;140:110-8.
16. Katopodis N, Hirshaut Y, Geller NL, Stock CC. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res* 1982;42:5270-5.
17. Calatroni A, Cordaro V, Salpietro C, Barberi I. Erythrocyte membrane sialic acid in new-born infants. *Acta Haematol* 1984;71:198-203.
18. Tsuda M, Taketomi S, Iwatsuka H. Selective inhibition by neuraminidase of insulin action on hexose metabolism of mouse adipocytes. *Am J Physiol* 1980; 239:186-91.

19. Gill RK, Mahmood S, Nagpaul JP, Mahmood A. Functional role of sialic acid in IgG binding to microvillus membranes in neonatal rat intestine. *Biol Neonate* 1999;76:55-64.
20. Kelm S, Schauer R. Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int Rev Cytol* 1997;175:137-240.
21. Kakari S, Stringou E, Toumbis M, Ferderigos AS, Poulaki E, Chondros K, et al. Five tumor markers in lung cancer: significance of total and "lipid"-bound sialic acid. *Anticancer Res* 1991;11:2107-10.
22. Patel PS, Baxi BR, Desai SS, Balar DB. Serum total sialic acid and regan isoenzyme levels in patients with lung cancer. *Indian J Pathol Microbiol* 1990;33:124-8.
23. Patel PS, Raval GN, Rawal RR, Patel GH, Balar DB, Shah PM, et al. Assessing benefits of combining biochemical and immunological markers in patients with lung carcinoma. *Cancer Lett* 1994;82:129-33.
24. Thomas P. Cell surface sialic acid as a mediator of metastatic potential in colorectal cancer. *Cancer J* 1996;9:1-6.
25. Meyer U, Dierig C, Katopodis N, De Bruijn CH. The role of lipid-associated sialic acid (LSA) and prostate specific antigen (PSA) in the follow-up of prostatic cancer. *Anticancer Res* 1993;13:1889-94.
26. Gottschalk A, Bhargava AS. Neuraminidases. In: Bayer PD, editor. *The enzymes*. Vol. 5, 3rd ed. New York: Academic Press; 1971. p. 321-42.
27. Sönmez H, Süer S, Güngör Z, Baloğlu H, Kokoglu E. Tissue and serum sialidase levels in breast cancer. *Cancer Lett* 1999;136:75-8.
28. Dwivedi C, Dixit M, Hardy RE. Plasma sialyltransferase as a tumor marker. *Cancer Detect Prev* 1988; 11:191-6.
29. Frithz G, Ronquist G, Ericsson P. Serum sialyltransferase and fucosyltransferase activities in patients with multiple myeloma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1985; 21:913-7.
30. Ganzinger U, Deutsch E. Serum sialyltransferase levels as a parameter in the diagnosis and follow-up of gastrointestinal tumors. *Cancer Res* 1980;40:1300-4.
31. Emmelot P. Biochemical properties of normal and neoplastic cell surfaces: a review. *Eur J Cancer* 1973;9: 319-33.
32. Singhal A, Hakomori S. Molecular changes in carbohydrate antigens associated with cancer. *Bioessays* 1990;12:223-30.
33. Taniuchi K, Chifu K, Hayashi N, Nakamachi Y, Yamaguchi N, Miyamoto Y, et al. A new enzymatic method for the determination of sialic acid in serum and its application for a marker of acute phase reactants. *Kobe J Med Sci* 1981;27:91-102.
34. Weiss JF, Morantz RA, Bradley WP, Chretien PB. Serum acute-phase proteins and immunoglobulins in patients with gliomas. *Cancer Res* 1979;39(2 Pt 1):542-4.