

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Hastalarda Serum Total ve Lipide Bağlı Sialik Asid Düzeyleri

Selma Süer GÖKMEN¹, Şebnem Selen İŞBİLİR², Tuncay ÇAĞLAR³, Erhan TABAKOĞLU⁴,
Şendoğan GÜLEN⁵

ÖZET

Amaç: Tümör hücrelerinin sialik asid üretiminde bir artış olduğu ve bunun da tümör hücre yüzeyinden kana sialik asid sekresyonunda bir artışla sonuçlanabilecegi ileri sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda serum total ve lipide bağlı sialik asid düzeylerinin bir marker olarak kullanılıp kullanılmayacağını incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Yaşları 45-75 arasında değişen 19'u epidermoid, 11'i adenomlu toplam 30 küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastada ve yaşıları 45-71 arasında değişen 26 sağlıklı bireyde serum total ve lipide bağlı sialik asid düzeyleri ölçülmüştür.

Bulgular: Serum total ve lipide bağlı sialik asid düzeyleri kanserli grupta sırasıyla 94.24 ± 21.58 mg/dl ve 41.62 ± 11.81 mg/dl, sağlıklı grupta ise sırasıyla 51.67 ± 6.20 mg/dl ve 18.77 ± 2.90 mg/dl olarak bulunmuştur. Kanserli gruptaki serum total sialik asid ($p < 0.001$) ve lipide bağlı sialik asid ($p < 0.001$) düzeyleri sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak daha yüksekti.

Sonuç: Serum total sialik asid ve lipide bağlı sialik asid düzeylerinin ölçülmesinin küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaları sağlıklı bireylerden ayırmada faydalı olabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler: Total sialik asid, lipid-bağılı sialik asid, küçük hücreli dışı akciğer kanseri

SUMMARY

SERUM TOTAL AND LIPID-BOUND SIALIC ACID LEVELS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA

Purpose: It has been proposed that neoplasms often produce an increased concentration of sialic acid in the blood through the shedding or secreting of sialic acid from the tumor cell surface. The aim of this study is whether serum total and lipid-bound sialic acids may be used as tumor markers for distinguishing the patients with non-small cell lung carcinoma from the healthy subjects.

Methods: Serum total and lipid-bound sialic acid levels were determined in 30 patients with non-small cell lung carcinoma (19 of which were epidermoid carcinoma and 11 of which were adenocarcinoma) ranging in age from 45 to 75 years and in 26 healthy subjects ranging in age from 45 to 71 years.

Results: The mean serum total sialic acid and lipid-bound sialic acid were 94.24 ± 21.58 mg/dl and 41.62 ± 11.81 mg/dl, in patient group and 51.67 ± 6.20 mg/dl and 18.77 ± 2.90 mg/dl in control group, respectively. Both serum total sialic acid ($p < 0.001$) and lipid-bound sialic acid ($p < 0.001$) levels in patients with non-small cell lung carcinoma were found to be significantly elevated when compared with control group.

Conclusion: We may report that the measurement of serum total sialic acid and lipid-bound sialic acid levels may be useful for distinguishing the patients with non-small cell lung carcinoma from the healthy subjects.

Key Words: Total sialic acid, lipid-bound sialic acid, non-small cell lung carcinoma

GİRİŞ

Sialik asidler plazma membranının ve diğer hücresel bileşenlerin glikoprotein ve glikolipitlerinde terminal olarak bulunan açıllenmiş neuraminik asidlerdir (1-3). Terminal pozisyonda bulunan sialik asidin hücresel adhezyon ile ilgili olduğu kabul edilmektedir (4,5). Sialik asidler güçlü karboksil gruplarına

(N-asetilneuraminik asid için pKa:2.6) sahip olduklarıdan, glikoproteinlerde veya hücre yüzeyinde bulunmaları negatif yüzey yüklerine önemli katkı sağlarlar (1,2). Trombositlerde, eritrositlerde ve kanser hücrelerinde görülen elektrostatik itmeden bu negatif yükler sorumludur(4,5).

¹: Doç.Dr.Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A. D.

²: Araş.Gör.Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü.

³: Prof..Dr.Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları A. D.

⁴: Yrd.Doç.Dr.Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları A. D.

⁵: Prof.Dr.Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A. D.

Sialik asidler bir çok hücre yüzey reseptörünün de komponentidirler ve glikolipid ya da glikoproteinlerin antijenik determinantları olarak görev yaparlar (3). Makromoleküller konformasyon üzerine etkilidirler ve bu etki, bazı sialoglukoproteinlerin proteolitik yıkılma direncinden sorumludur (6).

Serum total ve lipide bağlı sialik asid düzeylerinin koroner kalp hastalığı (7), myokard infarktüsü (8), diabetes mellitus (9) ve böbrek hastalığı (10) gibi çeşitli hastalıklarda arttığı gösterilmiştir. Kanserde sialik asid metabolizmasında bir değişimin olduğu da çeşitli araştırcılar tarafından bildirilmiştir (11-13).

Tümör hücrelerinin değişmiş yüzey özelliklerine sahip oldukları ve plazma membranındaki değişmiş sialoglukokonjugatların kısmen bu değişikliklerden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Hücrelerin yayılma ve metastaz yetenekleri bu değişmiş yüzeyler tarafından etkilenir (14,15).

Son yıllarda akciğer tümörleri ile ilişkili, hormon, regülatör peptidler, fetal proteinler ve enzimler gibi bazı biyokimyasal markerlerden akciğer kanserli hastaların teşhisini ve hastaların tedaviye yanıtının izlenmesi amacıyla faydalanyılmaktadır (16).

Akciğer kanserli hastaları sağlıklı bireylerden ayırmada marker olarak rolünü incelemektir. Bu çalışmanın amacı serum total ve lipide bağlı sialik asid düzeylerinin küçük hücreli dişî.

GEREÇ VE YÖNTEM

Küçük hücreli dişî akciğer kanserli hastaların periferal kan örnekleri Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan sağlanmıştır. Hasta grubu yaşları 45-75 arasında değişen 19'u epidermoid, 1'i adenom olan toplam 30 küçük hücreli dişî akciğer kanserli bireyden oluşturulmuştur. Daha önce hiç radyoterapi

ve/veya kemoterapi almamış ve diyabeti, renal yetmezliği veya myokardial infarktüsü olmayan bireyler çalışmaya dahil edilmiştir. Hem hasta hem de kontrol grubundaki bireyler akut bir olayın varlığını bertaraf etmek için ateş ve lökositoz yönünden araştırılmıştır. Kontrol grubu yaşları 45-71 arasında değişen 26 sağlıklı gönüllüden oluşturulmuştur.

Total ve lipide bağlı sialik asid düzeylerinin tayini için serum örnekleri 12 saatlik bir açıktan sonra alınan venöz kanın 30 dakika içinde pihtilaştırılarak santrifüjlenmesi ile elde edilmiştir.

Total sialik asid düzeylerinin tayini için Warren tarafından tanımlanmış olan tiyobarbitürık asid metodu kullanılmıştır (17). Sialik asid tayininden önce sialik asid serbestleştirilmesi için serum 0,1 N H_2SO_4 ile 1 saat 80 °C'de inkübe edilmiştir.

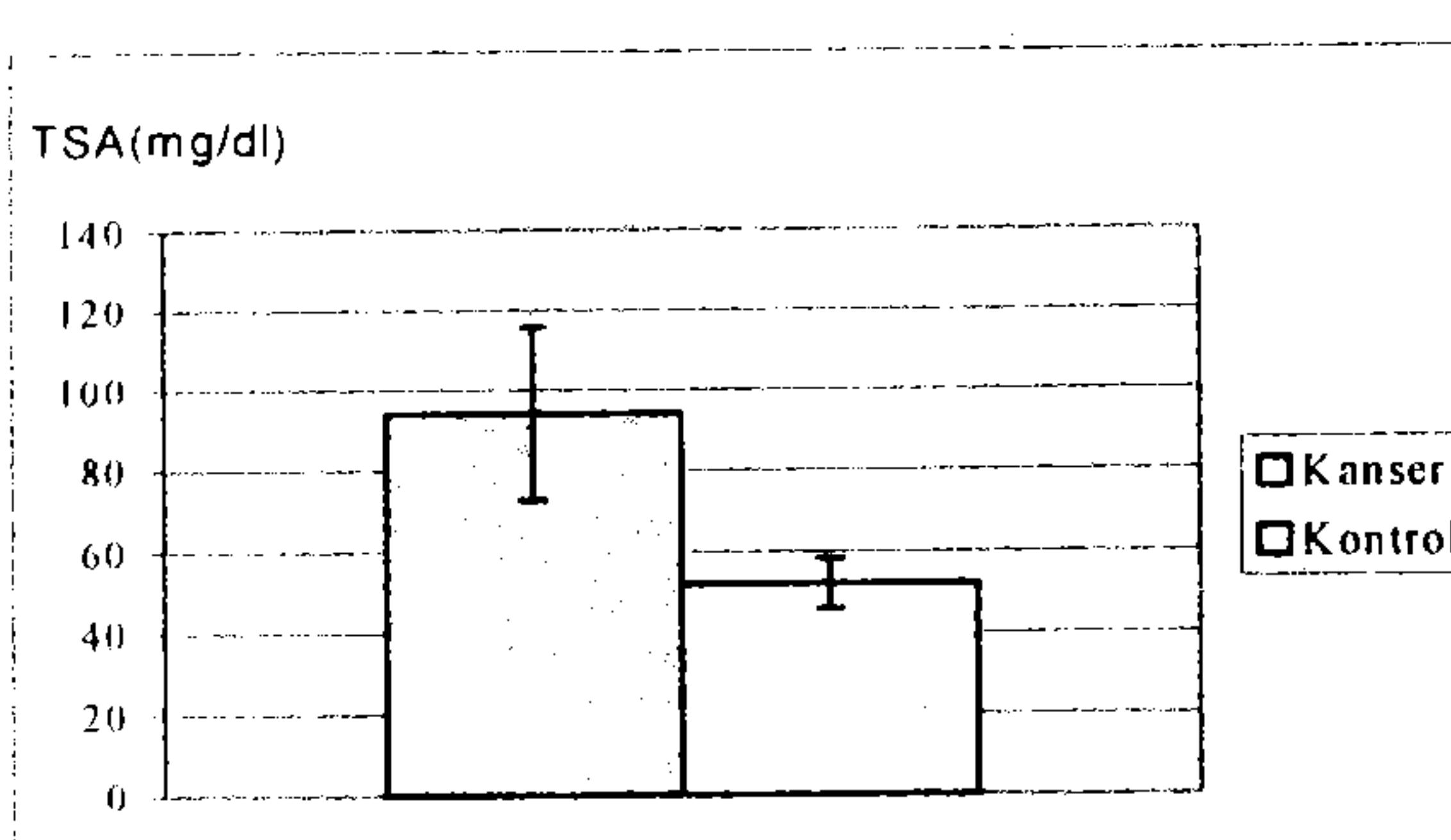
Kalibrasyon eğrisinin elde edilmesi için 25, 50, 75 ve 100 $\mu g/ml$ konsantrasyonlardaki standart N-asetilneuraminik asid solüsyonları kullanılmıştır (Sigma).

Lipide bağlı sialik asid tayini için Katopodis yöntemi kullanılmıştır (18).

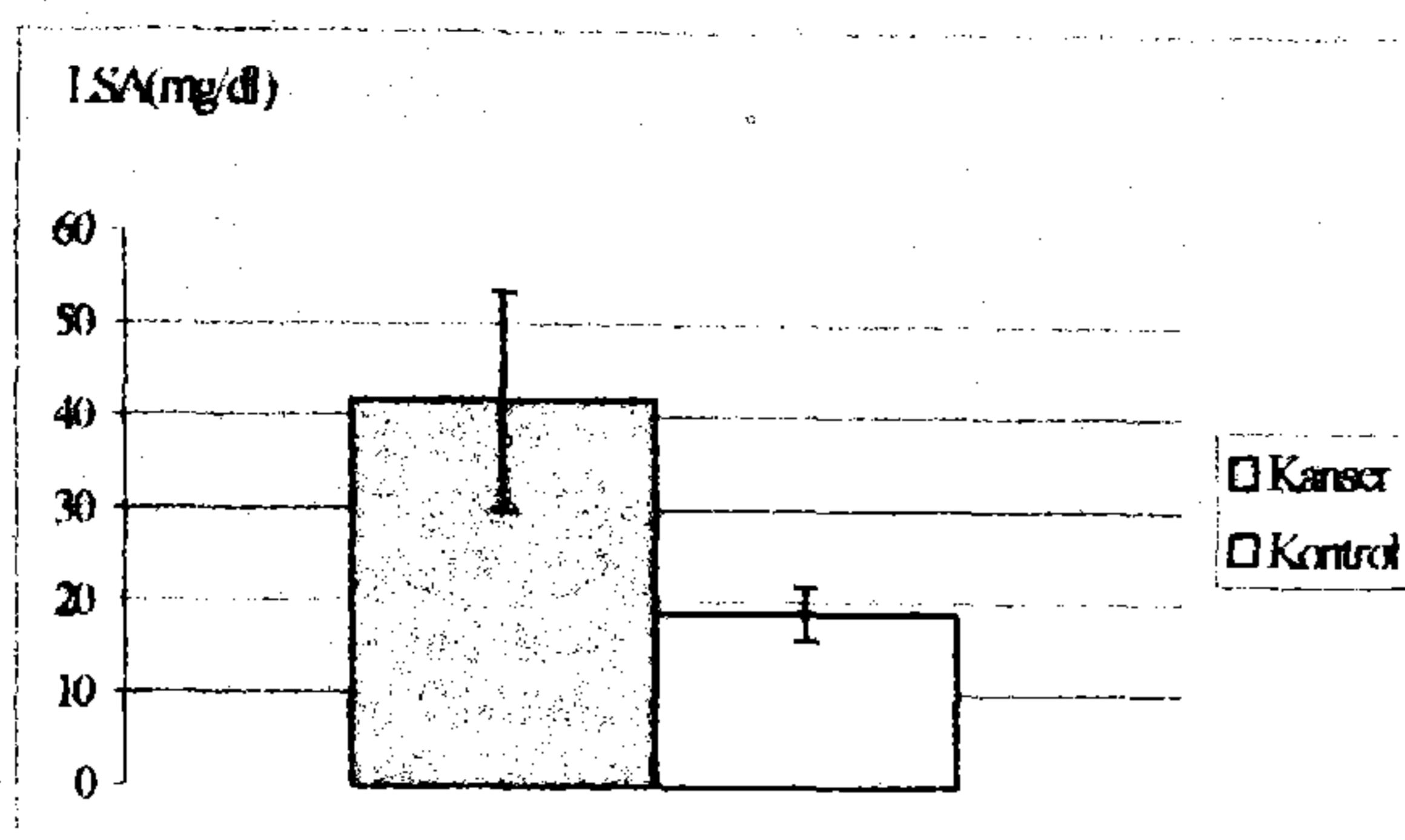
Karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. Sonuçlar serum total sialik asid ve lipide bağlı sialik asid için mg/dl olarak verilmiş ve ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir.

BULGULAR

Serum total sialik asid ve lipide bağlı sialik asid düzeyleri hasta grubunda sırasıyla 94.24 ± 21.58 mg/dl ve 41.62 ± 11.81 mg/dl, sağlıklı grupta sırasıyla 51.67 ± 6.20 mg/dl ve 18.77 ± 2.90 mg/dl olup küçük hücreli dişî akciğer kanserli hastalardaki hem total sialik asid ($t=9.696$, $p<0.001$) hem de lipide bağlı sialik asid ($t=9.689$, $p<0.001$) düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yükseldi (Şekil 1 ve 2).



Şekil 1. Küçük hücreli dişî akciğer kanserli hastaların ve kontrol grubunun serum total sialik asid (TSA) düzeyleri



Şekil II.Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların ve kontrol grubunun serum lipide bağlı sialik asid (LSA) düzeylerinin karşılaştırılması

TARTIŞMA

Sialik asidler, oligosakkaridlerin, polisakkaridlerin ve glukokonjugatların komponentleri olup, hücresel adhezyon ile ilgilidirler ve trombositler, eritrositler ve kanser hücrelerindeki elektrostatik itmeden sorumlu olan negatif yüzey yüklerine önemli katkıda bulunurlar (4,5,19). Sialik asidler glukokonjugatların makromoleküler yapısını da etkileyebilirler (3,5) ve spesifik hücresel tanıma bölgelerini maskeleme kabiliyetine sahiptirler (3).

Neoplastik transformasyonun plazma sialik asid konsantrasyonunda bir artışı başlattığı bildirilmektedir (11-13). Kanser hücresel bir hastalık olarak başlar ve bundan dolayı hastalığın semptomlarına bir hücre organeli aracılık eder (20). Asyptomatik hastalarda akciğer kanseri ile diğer hastalık arasındaki ayırcı tanıda akciğer kanserinin erken teşhis ve izlenmesinde bazı biyokimyasal markerler kullanılmaktadır. Ancak yeterli derecede duyarlı ve spesifik tek bir markerin varlığı henüz gösterilememiştir (16).

Bir çalışmada total sialik asid / total protein oranı ve fosfohekzo izomeraz'ın akciğer kanserli hastalar için karsinoembriyonik antijeninden daha iyi bir tümör markeri olduğu ileri sürülmüştür (21). Bir başka çalışmada ise lipide bağlı sialik asidin akciğer kanserli hastalarda saydalı biyokimyasal marker olduğu bildirilmiştir (22).

Bu çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların serumunda total ve lipide bağlı sialik asid düzeyleri birlikte ölçülerek, tümör markeri olarak rolleri araştırılmıştır. Bulgularımız hem total sialik asid ($p<0.001$) hem

de lipide bağlı sialik asid ($p<0.001$) düzeylerinin küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Tümör hücre yüzeyinin hedef organdaki hücreler ve ekstraselüler matriks ile etkileşimleri yayılma ve uzak metastazın oluşumu için önemlidir. Bu nedenle matriks ve diğer hücreler arasındaki adhezyon için tanıma molekülleri olarak hücre yüzey glikokonjugatlarının rolü önemli olabilir (23). Malign hücrelerin yüzeyinde bulunan sialik asid miktarı metastaz kabiliyeti ile direkt olarak orantılıdır (14,15,23). Serum sialik asid düzeyinin farelerde uzak metastazın inhibisyonu ile azaldığı gösterilmiştir (24). Bir başka çalışmada akciğer kanserli dokularda glikopeptidin daha fazla sialik asid içerdiği gösterilmiştir (25).

Neoplazmaların, tümör hücre yüzeyinden sialik asidin dökülmesi aracılığıyla kandaki sialik asid konsantrasyonunda bir artışı başlattığı bilinmektedir (26). Yükselmiş serum sialik asid düzeyleri, sialik asidin artmış sentez hızından veya fazlaca sialik asid içeren hücre yüzey glikokonjugatlarından spontanöz olarak saliverilmesinden kaynaklanabilir.

Sialik asidin asialoglikoproteinlere transferinden sorumlu enzimler olan serum sialyltransferazlarda (27) yükseltmiş sialik asid düzeylerinden sorumlu olabilirler çünkü sialyltransferaz aktivitesi bazı kanser hastalarının serumunda artmış olarak gösterilmiştir (28,29).

Terminal sialik asid kalıntılarının oligosakkaridlerden, glikoproteinlerden ve gangliozidlerden ayrılmışını katalizleyen enzim sialidazdır (30-31).

Bir glikoproteinden sialik asid kalıntılarının uzaklaştırılması, onun antijenik ekspresyonunu, reseptörler tarafından tanımmasını, fonksiyonunu ve dolaşımda kalma süresini etkileyebilir (32). Kanser hastalarında serum sialik asid düzeylerindeki artış sialidaz aktivitesindeki artıstan da kaynaklanabilir. Daha önceki bir çalışmamızda meme kanserli hastalarda serum ve doku sialidaz aktivitesinin yükseldiğini gösterdik (33). Tümör ilerleticisi forbol esterlerinin JB6 hücrelerinin sialidaz aktivitesinde bir değişikliği indüklediği de gösterilmiştir (34). Memeli sialidaz'ının çeşitli formlarının karsinogenezde değiştiği de gösterilmiştir (35). Sialik asidin hem anabolik hem de katabolik metabolizması neoplastik hastalıklarda uyarılıyor olabilir.

Akut faz proteinlerinin artmış atılımına yol açan spesifik olmayan sekonder reaksiyonlar da kanserli hastalardaki sialik asid artışında rol oynayabilir. Sialik asidçe zengin başlıca akut faz proteinlerinin (α_1 -asid glikoprotein, α_1 -antitripsin ve haptoglobulin) düzeylerinin gliomlu hastalarda anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (36).

Sonuç olarak, serum total ve lipide bağlı sialik asid düzeylerinin küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda anlamlı olarak yükseldiğini ve total ve lipide bağlı sialik asid ölçümünün küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaları sağlıklılardan ayırmada faydalı bir biyokimyasal marker olarak görev yapabileceğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

- Cook GMW: Techniques for the analysis of membrane carbohydrates. In: Maddy AH (Ed). Biochemical Analysis of Membranes. London: Wiley and Sons. 1976: 287-292.
- Moss DW: Post-translationally modified forms of enzymes of diagnostic importance. In: Werner M, Guldberg DM (Eds). Selected Topics in Clinical Enzymology. Vol. 2, Berlin: De Gruyter, 1984: 515-533.
- Schauer R: Sialic acids and their role as biological masks. Trends Biochem. Sci. 1985; 10: 357-360.
- Jeanloz RW, Codington JF: In: Biological roles of sialic acid. Rosenberg A, Schengrund CL. (Eds) New York: Plenum Press, 1976: 201-238.
- Schauer R: Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. In: Stuart T, Horton D. (Eds) Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. Vol. 40. New York: Academic Press, 1982: 131-234.
- Aquino D, Wong R, Margolis RU, Margolis RK: Sialic acid residues inhibit proteolytic degradation of dopamine beta-hydroxylase. FEBS Lett. 1980; 112: 195-198.
- Allain P, Oliver E, Le-Bouil A, Benoit C, Geslin P, Tadei A: Increase of sialic acid concentration in the plasma of patients with coronary disease. Presse Med. 1996; 25: 96-98.
- Haq M, Haq S, Tutt P, Crook M: Serum total sialic acid and lipid-associated sialic acid in normal individuals and patients with myocardial infarction and their relationship to acute phase proteins. Ann Clin Biochem 1993; 30: 383-386.
- Tomino Y, Inoue W, Yagame M, Nomoto Y, Sakai H, Ito K, Nagaoka K, Ikeda N: Measurement of sialic acid and acute phase reactant proteins in sera of patients with diabetic nephropathy. J. Diabet. Complications 1988; 2: 175-178.
- Ozben T: Elevated serum and urine sialic acid levels in renal diseases. Ann. Clin. Biochem. 1991; 28: 44-48.
- Dwivedi C, Dixit M, Hardy RE: Plasma lipid-bound sialic acid alterations in neoplastic diseases. Experientia 1990; 46: 91-94.
- Meyer V, Dierig C, Katopodis N, De-Bruijn CH: The role of lipid-associated sialic acid (LSA) and prostat specific antigen (PSA) in the follow-up prostatic cancer. Anticancer Res. 1993; 13: 1889-1894.
- Süer S, Sönmez H, Karaaslan I, Baloglu H, Kökoğlu E: Tissue sialic acid and fibronectin levels in human prostatic cancer. Cancer Lett. 1996; 99: 135-137.
- Passaniti A, Hart GW: Cell surface sialylation and tumor metastases: metastatic potential of B16 melanoma variants correlates with their relative number of specific penultimate oligosaccharide structures. J. Biol. Chem. 1988; 263: 7591-7603.
- Yogeeswaran G: Cell surface glycolipids and glycoproteins in malignant transformation. Adv. Cancer Res. 1983; 38: 289-350.

16. McIntire KR: Lung cancer markers. In: Human Cancer Markers (Eds). Sells, Wahern B, Clifton NN, Human Press. 1982; 359.
17. Warren L: The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J. Biol. Chem.* 1959; 234: 1971-1975.
18. Katopodis N, Hirsaut Y, Geller NL, Stock CC: Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res.* 1982; 42: 5270-5275.
19. Deluca S, Lohmander LS, Nilsson B, Hascall VC, Caplan AI: Proteoglycans from chick limb bud chondrocyte cultures. Keratan sulfate and oligosaccharides which contain mannose and sialic acid. *J. Biol. Chem.* 1980; 255: 6077-6083.
20. Emmelot P: Biochemical properties of normal and neoplastic cell surfaces. A review. *Eur. J. Cancer* 1973; 9: 319-333.
21. Patel PS, Raval GN, Rawal RM, Patel GH, Blair DB, Shah PM, Patel DD: Comparison between serum levels of Carcinoembryonic antigen, sialic acid and phosphohexose isomerase in lung cancer. *Neoplasma* 1995; 42: 271-274.
22. Iwahashi N: Serum lipid-bound sialic acid as a marker in lung cancer. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1990; 28: 1599-1607.
23. Thomas P: Cell surface sialic acid as a mediator of metastatic potential in colorectal cancer. *Cancer J.* 1996; 9: 1-6.
24. Menon LG, Kuttan R, Nair MG, Chang YC, Kuttan G: Effect of isoflavones genistein and daidzein in the inhibition of lung metastasis in mice induced by B16 F-10 melanoma cells. *Nutr. Cancer* 1998; 30: 74-77.
25. Masuda H, Ozeki T: Comparison of glycopeptide in lung cancer tissues of different histological types. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1988; 40: 253-259.
26. Singhal A, Hakomori S: Molecular changes in carbohydrate antigens associated with cancer. *Bioassays* 1990; 12: 223-230.
27. Broquet P, Baubichon-Cortay H, George P, Louisot P: Glycoprotein sialyltransferases in eucaryotic cells. *Int. J. Biochem.* 1991; 23: 385-389.
28. Dwivedi C, Dixit M, Hardy RE: Plasma sialyltransferase as a tumor marker. *Cancer Detect. Prev.* 1988; 11: 191-196.
29. Frithz G, Ronquist G, Ericsson P: Serum sialyltransferase and fucosyl-transferase activities in patients with multiple myeloma. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1985; 21: 913-917.
30. Fingerhut R, Vanderhorst GTJ, Verheijen F, Conzelmann E: Degradation of gangliosides by the lysosomal sialidase requires an activator protein. *Eur J Biochem* 1992; 208: 623-629.
31. Michalski JC, Corfield AP, Schauer R: Properties of human liver lysosomal sialidase. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 1986; 367: 715-722.
32. Miyagi T, Tsuiki S: Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J. Biol. Chem.* 1985; 260: 6710-6716.
33. Sönmez H, Süer S, Güngör Z, Baloglu H, Kökoğlu E: Tissue and serum sialidase levels in breast cancer. *Cancer Lett.* 1999; 136: 75-78.
34. Miyagi T, Sagawa J, Kuroki T, Matsuya S, Tsuiki S: Tumor promoting phorbol ester induces alterations of sialidase and sialyltransferase activities of JB 6 cells. *Jpn. J. Cancer Res.* 1990; 81: 1286-1292.
35. Miyagi T, Hata K, Konno K, Tsuiki S: Multiple forms of mammalian sialidase: altered expression in carcinogenesis. *Tohoku J. Exp. Med.* 1992; 168: 223-229.
36. Weiss JF, Morantz RA, Bradley WP, Chretien PB: Serum acute-phase proteins and immunoglobulins in patients with gliomas. *Cancer Res.* 1979; 39: 542-544.