

# Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Hastalarda Doku Arginaz Aktivitesi

Selma Süer GÖKMEN<sup>1</sup>, Yener YÖRÜK<sup>2</sup>, Faruk YORULMAZ<sup>3</sup>, Şendoğan GÜLEN<sup>4</sup>

## ÖZET

**Amaç:** Arginaz, üre siklusunun son basamağı olan argininin üre ve ornitine hidrolizini katalizler. Karaciğer diki arginazın poliamin biyosentezi için öncül molekül olan ornitini sağladığını inanılır. Poliamin metabolizmasındaki karışıklığın hücrelerin neoplastik transformasyonunda bir rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Çalışmamızın amacı, küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda arginaz aktivitesini ve arginaz düzeylerindeki değişimin kanser gelişimindeki rolünü irdelemektir.

**Gereç ve yöntem:** Küçük hücreli dışı akciğer kanserli (bes tanesi adenokarsinom ve beş tanesi epidermoid karsinom olan), yaşları  $60 \pm 10$  yıl arasındaki 10 hastadan elde edilen tümörlerde ve tümör çevresindeki sağlıklı dokularda arginaz düzeyleri tayin edilmiştir.

**Bulgular:** Orialama spesifik arginaz aktivitesi tümör dokularında  $2.05 \pm 1.35$  U/mg protein, sağlıklı dokularda  $0.65 \pm 0.19$  U/mg protein olarak bulunmuştur. Tümör dokularındaki arginaz aktivitesi sağlıklı dokularla karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yükseltti ( $p < 0.02$ ).

**Sonuç:** Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların tümör dokularındaki arginaz aktivitesinde görülen artış, poliamin biyosentezine substrat olarak ornitini sağlaması nedeniyle karsinogenezde önemli bir role sahip olabileceğini ve doku arginaz düzeylerinin küçük hücreli dışı akciğer kanserinde bir marker olarak görev yapabileceğini söyleyebiliriz.

**Anahtar Sözcükler:** Arginaz, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, marker

## SUMMARY

### ARGINASE ACTIVITY IN HUMAN NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA

**Aim:** Arginase catalyzes the hydrolysis of arginine to urea and ornithine, the final step of the urea cycle. Extrahepatic arginase is believed to play a role in providing ornithine as a precursor for polyamine biosynthesis. It has been suggested that aberrant polyamine metabolism might play a role in neoplastic transformation of cells. The aim of our study was to examine the arginase activity in human non-small cell lung carcinoma and the role of changes in the levels of arginase in carcinogenesis.

**Material and method:** Arginase activity were tested in tumor and adjacent normal tissues in 10 patients (aged  $60 \pm 10$  years) with non-small cell lung carcinoma (five of which were adenocarcinoma and five of which were epidermoid carcinoma).

**Results:** The mean specific activity of arginase in tumor tissues were  $2.05 \pm 1.35$  U/mg protein, respectively versus  $0.65 \pm 0.19$  U/mg protein for normal tissues. The mean spacific activity of arginase from tumor tissues were found to be over twice that for normal tissues ( $p < 0.02$ ).

**Conclusion:** We report that the arginase activity are elevated in human non-small cell lung carcinoma. Elevated tissue arginase activity may be responsible for the increased production of ornithine, a precursor of polyamine biosynthesis, and therefore an important factor in carcinogenesis.

**Key words:** Arginase, human non-small cell lung carcinoma, marker

## GİRİŞ

Tüm memeli hücrelerinde bulunan alifatik poliaminler; putresin, spermidin ve spermin hücre büyümeye için gerekli olup, transkripsiyon, translatasyon ve protein sentezinin başlama safhasını kolaylaştırırlar(1). Poliamin sentezindeki ilk reaksiyon; arginaz (L-Arginin amidino-hidrolaz; E.C.3.5.3.1) tarafından katalizlenen argininin ornitine dönüşümüdür. Ornituden putresinin

sentezi regülatör enzim olan ornitin dekarboksilaz tarafından katalizlenir. Üre siklusunun fonksiyon göstermediği karaciğer dışı memeli dokularında arginazın hücrelere poliamin sentezinde bir öncül molekül olan ornitini sağladığını inanılır(2).

Neoplastik gelişim boyunca poliamin biyosentezinin regülasyonunda önemli değişiklikler ortaya çıkar. Normal olarak çoğalan hücrelerde(3) ve neoplastik transformasyon esnasında (2,4)

<sup>1</sup> Yrd.Doç.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D.

<sup>2</sup> Yrd.Doç.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi A.D.

<sup>3</sup> Doç.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı A.D.

<sup>4</sup> Prof.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D.

yükselmiş ornitin dekarboksilaz düzeylerine rastlanır. Poliaminlerin tüketilmesi in vitro ve hayvan modellerinde neoplastik hücrelerin büyümeyi inhibe eder. Poliamin biosentezinin inhibitörleri tümör büyümeyi bloke etmede (5) ve metastazları önlemede(4) önemli bir role sahiptir. Tümör promoterleri ise ornitin dekarboksilaz aktivitesini artırırlar(6). Arginaz aktivitesinin de bazı tip kanserlerde değiştiği gösterilmiştir(7-14).

Bu çalışmanın amacı küçük hücreli diş akciğer kanserli hastalarda arginaz aktivitesini incelemek ve arginaz düzeylerindeki değişimin kanser gelişimindeki rolünü irdelemekti.

#### GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu beş tanesi adenokarsinom ve beş tanesi epidermoid karsinom olan küçük hücreli diş akciğer kanserli, yaşıları  $60 \pm 10$  arasında değişen 10 hastadan oluşturulmuştur. Arginaz aktivitesi hastaların tümünün tümör dokularında ve

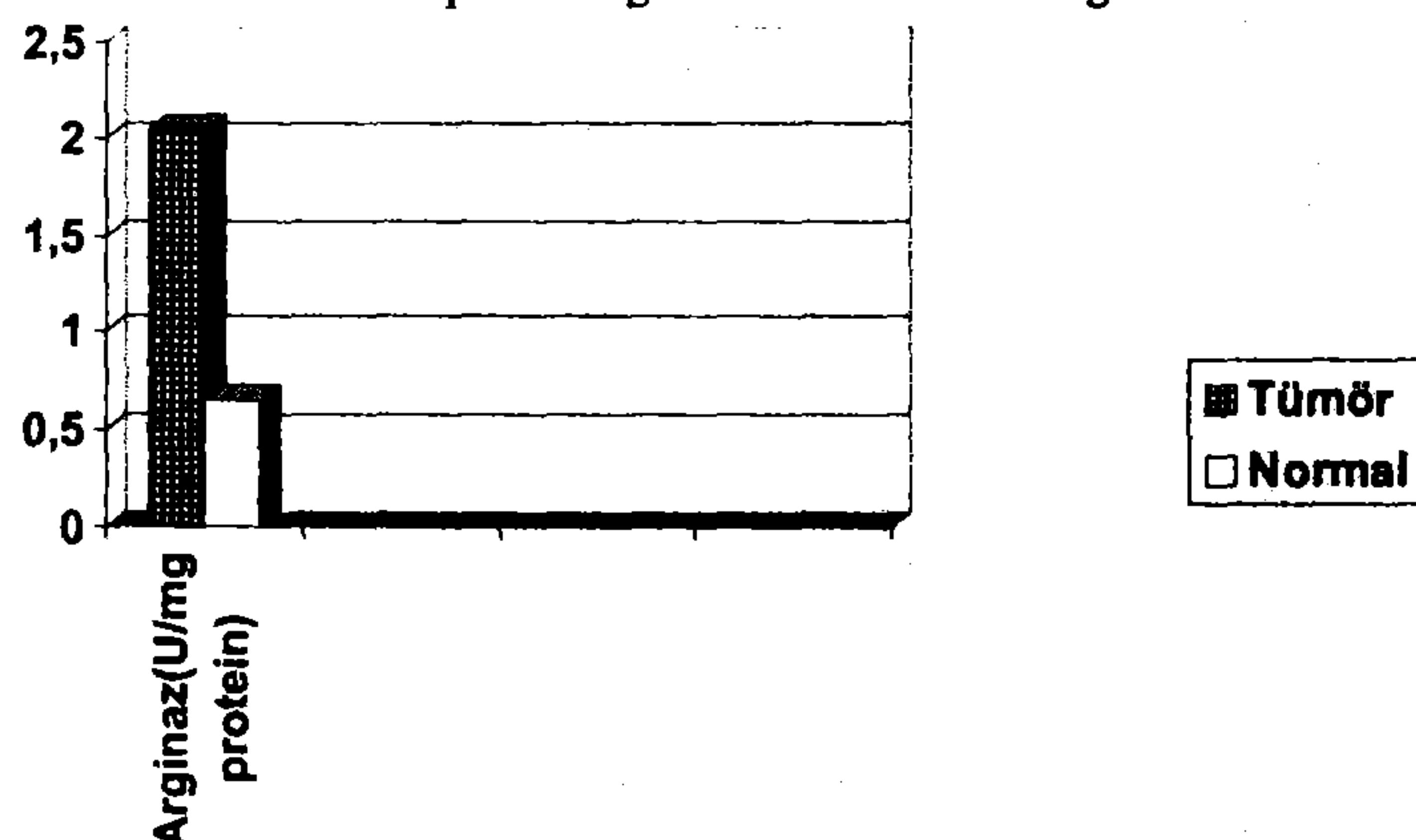
bazı doku örneklerinin çok küçük olması nedeniyle sadece yedisinin tümör çevresi内的 sağlıklı dokularında tayin edilebilmiştir. Çalışma grubuna dahil edilen hastaların hiç kemoterapi ya da radyoterapi görmemiş olmalarına dikkat edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm doku örnekleri fakültemizin Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından sağlanmıştır. Hastadan alınan tümör ve tümör çevresi sağlıklı doku örnekleri derhal soğuk %0,9'luk NaCl solüsyonu içine konularak -76°C'ta depolanmıştır. Donmuş dokular ayrı ayrı tartılarak Potter-tip homojenizatörde ağırlıklarının 10 katı soğuk 0,05M Tris-HCl tamponu(pH 8,05) ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar 4°C'ta ve 11,000 xg'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant alınmıştır. Dokulardaki arginaz aktivitesi Geyer ve Dabich'in metoduna göre(15), protein konsantrasyonu ise Lowry ve arkadaşlarının yöntemine göre (16) çalışıldı. İstatistiksel analizler Wilcoxon two sample test kullanılarak gerçekleştirildi(17).

**Tablo I:** Küçük hücreli diş akciğer kanserli hastaların tümör ve tümör çevresi sağlıklı dokularındaki ortalama spesifik arginaz aktivitesi

Doku Tipi	n	Arginaz (U/mg protein)
Tümör	10	* $2.05 \pm 1.35$
Normal	7	$0.65 \pm 0.19$

\* $p < 0.02$

**Şekil 1:** Küçük hücreli diş akciğer kanserli hastaların tümör ve tümör çevresi sağlıklı dokularındaki ortalama spesifik arginaz aktivitesinin histogramı.



**BULGULAR**

Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların tümör ve tümör çevresi sağlıklı dokularındaki ortalama spesifik arginaz aktivitesi Tablo I'de görülmektedir. Ortalama spesifik arginaz aktivitesi tümör dokularında  $2.05 \pm 1.35$  U/mg protein, sağlıklı dokularda  $0.65 \pm 0.19$  U/mg protein olarak bulundu. Tümör dokularındaki ortalama spesifik arginaz aktivitesi sağlıklı dokulardakine göre anlamlı olarak daha yüksekti ( $p < 0.02$ ) (Şekil 1).

**TARTIŞMA**

Üre sıklusunun bir enzimi olan arginaz, argininin üre ve ornitine hidrolizini katalizler (18). Arginaz başlıca karaciğerde bulunmakla birlikte akciğer gibi bazı dokularda da aktivitesine rastlanır (19). Karaciğer dışı arginazın poliamin biyosentezi için bir substrat olarak ornitin sağlanmasında rol oynadığı ileri sürülmüştür (2,6). Poliaminler kanser hücreleri gibi hızla bölünen ve çoğalan hücreler tarafından fazla miktarlarda sentezlenen organik katyonlardır (2). Ornitinin poliamin biyosentezinde öncül molekül olan putresine dönüşümünü katalizleyen ornitin dekarboksilazın ve poliaminlerin artmış düzeyleri çeşitli kanser tiplerinde gösterilmiştir (4,20,21).

Bu çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda doku arginaz düzeyleri araştırılmış ve tümör dokularındaki arginaz düzeyleri sağlıklı dokulara göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.02$ ). Bu sonuç arginaz

aktivitesinin gastrik (12-14), kolorektal (11), kalın barsak (7), meme (9), ürogenital (10) ve prostatik (8) kanserde arttığını ileri süren çalışmalarla tutarlıdır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar arginazın immunolojik olayların regulasyonu ile de ilgili olabileceğini ileri sürmektedir (13,14), fakat tümörlerdeki immun yanıtlarında arginazın rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Kısmen saflaştırılmış olan karaciğer kaynaklı bir inhibitör proteinin (22) lenfosit proliferasyonu üzerine güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğu ve bu inhibitör proteinin sitoplazmik karaciğer arginazı olduğu gösterilmiştir (17,23).

Arginazın mide kanserinde dalağa ait katil hücre aktivitesini inhibe ettiği ve böylece kanser hücrelerinin yayılmasında pozitif bir rol oynadığı da bildirilmiştir (24). Diğer yandan arginazın aktivasyon sonucu makrofajlar tarafından salgılanlığı ve tümörün büyümeyi engelleyebildiği ileri sürülmüştür (25).

Bu çalışma ile küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların tümör dokusu arginaz aktivitelerinde sağlıklı dokulardakine göre önemli bir artış bulunduğu, bu artışın poliamin biyosentezini hızlandırması nedeniyle kanser gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğini ve doku arginaz düzeylerinin küçük hücreli dışı akciğer kanserinde marker olarak görev yapabileceğini söyleyebiliriz.

**KAYNAKLAR**

1. Hebb O:Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation. *Differentiation* 1981;19:1-20.
2. Pegg AE,McCann PP:Polyamine metabolism and function.*Am J Physiol.*1982;243:C212-221.
3. Janne J,Pösö H,Raine A:Polyamines in rapid growth and cancer.*Biochem.Biophys.Acta* 1978;473:241-293.
4. Scalabrino G,Feroli ME:Polyamines in mammalian tumors.Part 1.*Adv.Cancer Res.*1981;35:151-268.
5. Tutton PJM,Barkla DH:Comparison of the effects of an ornithine decarboxylase inhibitor on the intestinal epithelium and on intestinal tumor.*Cancer Res.*1986;46:6091-6094.
6. Verma AK,Boutwell RK:Characterization of arginase activity from mouse epidermis and its relation to ornithine decarboxylase induction by the tumor-promoting agent, 12-O-
- teradecanoylphorbol-13-acetate. *Biochim.Biophys. Acta* 1981;677:184-189.
7. Konarska L,Kolasa T,Albrecht P,Regula A:Can arginase be a marker of the large bowel neoplasia?*Acta Biochim.Pol.*1993;40:164-166.
8. Harris BE,Pretlow TP,Bradley EL,Whitehurst GB,Pretlow TG:Arginase activity in prostatic tissue of patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma.1983;43:3008-3012.
9. Straus B,Cepelak I,Festa G:Arginase a new marker of mammary carcinoma.*Clin.Chim.Acta*1992;210:5-12.
10. Yamanaka H,Mayuzumi T,Matsuoka M,Shimazaki J,Shida K:Arginase in human urogenital tumors.*Gann* 1972;63:693-700.
11. Leu SY,Wang SR:Clinical significance of arginase in colorectal cancer.*Cancer* 1992;70:733-736.

12. Wu CW,Chi CW,Lin EC,Lui WY,P'eng FK,Wang SR:Serum arginase level in patients with gastric cancer.*J.Clin.Gastroenterol.*1994;18:84-85.
13. Wu CW,Chi CW,Tsay SH,Lui WY,P'eng FK,Chang KL,Huang MH,Wang SR:The effects of arginase on neoplasm.I.The role of arginase in the immunosuppressive effects of extract from gastric cancer.*Chin.J.Microbiol.Immunol.*1987;20:279-289.
14. Wu CW,Wang SR,Chang TJ,Lin EC,Chang KL,Huang MH,Lui WY,P'eng FK,Chi CW:Content of glucocorticoid receptor and arginase in gastric cancer and normal gastric mucosal tissues.*Cancer* 1989;64:2552-2556.
15. Geyer JW,Dabich D:Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates.*Anal.Biochem.*1971;39:412-417.
16. Lowry OH,Rosebrough NJ,Farr AL,Randall RJ:Protein measurement with the Folin phenol reagent.*J.Biol.Chem.*1951;193:265-275.
17. Dawson B,Trapp G:Basic and Clinical Biostatistics.Lange,p.110,1990.
18. Berueter J,Colombo JP,Bachmann C:Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes.*Biochem.J.*1978;175:449-454.
19. Straus B,Borcic O:Inhibitory action of some amino acids on arginase from human liver,kidney,mammary gland and erythrocytes.*Acta Pharm.Jugosl.*1976;26:149-153.
20. Koza RA,Megosh LC,Palmieri M,O'Brien TG:Constitutively elevated levels of ornithine and polyamines in mouse epidermal papillomas.*Carcinogenesis* 1991;12:1619-1625.
21. Clifford A,Morgan D,Yuspa SH,Soler AP,Gilmour S:Role of ornithine decarboxylase in epidermal tumorigenesis.*Cancer Res.*1995;55:1680-1686.
22. Grol M,Schumacher K:Purification and biochemical characterization of human liver-derived inhibitory protein(LIP).*J.Immunol.*1983;130:323-326.
23. Huang MH,Yang CC,Wang SR:Inhibition of lymphocyte proliferation by liver arginase.*Life Sci.*1992;51:1725-1730.
24. Wu CW,Chi CW,Ho CK,Chien SL,Lui WY,P'eng FK:Effect of arginase on splenic killer cell activity in patients with gastric cancer.*Dig.Dis.Sci.*1994;39:1107-1112.
25. Currie GA:Activated macrophages kill tumor cells by releasing arginase.*Nature* 1978;273:758-759.