

LARENKS KANSERİNDE SERUM ADENOZİN VE SİTİDİN DEAMİNAZ AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Serenay Elgün* • Müge Tuncer** • İ. Hakkı Gökhan*

ÖZET

Bu çalışmada, değişik evrelerde yassı hücreli larenks kanseri olan hastaların (n=62) serumlarında adenozin deaminaz ve sitidin deaminaz aktiviteleri ölçülmüştür. Sonuçlar, aynı yaş grubundaki sağlıklı erkek bireylerden oluşturulan kontrol grubu (n=24) ile karşılaştırıldığında, her iki enzimin de hasta grubunda aktiviteleri yüksek ve kontrol grubundan anlamlı derecede farklıydı ($p<0.001$ ve $p<0.001$). Bunun yanı sıra, hem adenozin deaminaz hem sitidin deaminaz aktivitelerinin, ileri evrelerde, birbirleriyle korele olarak yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak serum adenozin deaminaz ile birlikte sitidin deaminaz aktivite ölçümünün, larenks kanserli hastaların değerlendirilmesinde ve izleminde yararlı olabileceği ileri sürülebilir.

Anahtar Sözcükler: Adenozin deaminaz, sitidin deaminaz, larenks kanseri

SUMMARY

Evaluation of Serum Adenosine and Cytidine Deaminase Activities in Larynx Cancer

In this study, adenosine deaminase and cytidine deaminase activities were assayed in sera of patients (n=62) with different stages of squamous cell larynx cancer. Both of the enzyme activities were found to be higher in patients compared to controls (n=24) composed of healthy men of the same age group and the differences between the enzyme activities of the two groups were found to be statistically significant ($p<0.001$ and $p<0.001$). Besides the two enzyme activities were found to be elevated in advanced stages in correlation with each other. These results indicate that a combination of serum adenosine deaminase and cytidine deaminase activity determination could be useful for the evaluation and monitorization of patients with larynx cancer.

Key Words: Adenosine deaminase, cytidine deaminase, larynx cancer

Nükleozid deaminazlar, pürin ve pirimidin metabolizmasında yer alan, DNA'nın oluşum ve yıkımında önemli basamakları katalizleyen enzimlerdir. Bu enzim aktivitelerinin ölçümünün klinik önemi, özellikle son yıllarda spesifik ölçüm metodlarının geliştirilmesi ile birlikte ilgi çekmeye başlamıştır. Klinik önem taşıdığı çeşitli araştırmalarla belirlenen üç enzim, sitidin deaminaz (CD), guanaz ve adenozin deaminaz (ADA)dır. Bu çalışmada, hem pürin hem de pirimidin metabolik yollarını temsilen ADA ve CD aktiviteleri ölçülmüştür.

ADA (EC 3.5.4.4), pürin kurtarma arayolunda görevli olan anahtar enzimlerden birisidir. Adenozin ve

ya deoksiadenozinin, sırasıyla inozin ve deoksiinozine dönüşmesini sağlayan hidrolitik deaminasyon reaksiyonunu katalizler. İnsanda yaygın olarak dağılım gösteren enzim, özellikle lenfoid dokularda ve başlıca T lenfositleri olmak üzere periferik lenfositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (1-3). ADA immün sistemin normal fonksiyonunun sürdürülmesinde de çok büyük öneme sahiptir (4). ADA aktivite azlığı veya yokluğu çeşitli immün yetmezlik hastalıklarıyla birlikte görülmektedir (5, 6) ve bu hastalarda ADA ölçümünün klinik önemi kesin olarak kanıtlanmıştır (7).

ADA aktivitesi, bir çok hematolojik malignite ve solid tümör vakasında da incelenmiş ve anormal en-

* A.Ü.T.F Biokimya A.B.D.

** Ankara Numune Hastanesi T.KBB Kliniği

zim düzeyleri saptanmıştır. Lösemik hücrelerde ve plazmalarda yapılan çalışmalarda, KLL'de ADA aktivitesinin normal veya düşük, ALL'de ise oldukça yüksek olduğu ve seri olarak ölçülen plazma ADA aktivitesinin klinik gidişi yansıtılabileceği öne sürülmüştür (8, 9). Solid tümörlere ilişkin yayınlar ise sınırlı sayıdadır ve sonuçlar birbirinden farklı olduğu için bir karara varmak güçtür (10-14).

CD (EC 3.5.4.5), sitidin, deoksisitidin ve antineoplastik ilaçlar da dahil olmak üzere bazı nükleozid analoglarının hidrolitik deaminasyonunu katalizleyen sitoplazmik bir enzimdir. Kesin fizyolojik rolü henüz bilinmemekle birlikte, nükleik asit yıkımı sırasında pirimidin nükleozidleri için bir kurtarma yolu sağlar. CD aktivitesi, bugüne kadar solid tümörlerde yok denecek kadar az çalışmada ölçülmüştür. Yirmi kadar insan kanser hücre dizisinde CD geninin ekspresyonu incelenmiş ve oldukça değişken olduğu görülmüş ve normal dokularla ilişkisi gözlenmemiştir (15). İnsan meme kanseri dokusunda ise yine sağlam dokuya oranla anlamlı bir fark bulunamamıştır (16).

Bu araştırmada, yassı hücreli larenks kanserli hastalarda serum ADA ve CD aktivite ölçümlerinin tanısal değeri incelenmiş ve aynı amaçla hastalık evresi ile olan korelasyonları belirlenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, 62 erkek hasta ve 24 sağlıklı erkek bireyden bir gecelik açlık sonrasında sabah saat 8-10.00 arasında kan alınarak, serumları ayrılmış ve ADA ve CD aktivite ölçümleri yapılmak üzere -20 °C'ta saklanmıştır. Her iki grubun da yaş aralığı ortalama 35-70 yaş arasında tutulmuştur. Rutin klinik ve laboratuvar incelemeleri de yapılan gruplardan, hasta grubunun yassı hücreli larenks kanseri tanılı histopatolojik olarak konmuş ve TNM klasifikasyonları yapılmıştır.

ADA aktivite ölçümü Giusti'nin (17), CD ölçümü ise Jones ve arkadaşlarının (18) spektrofotometrik yöntemine göre yapılmıştır. ADA ölçümü, adenozinin ADA tarafından inozine dönüştürülmesi sırasında açığa çıkan amonyak miktarının saptanmasına dayanmaktadır, sonuçlar IU/L. olarak ifade edilmiştir. CD ölçüm yöntemi ise, sitidinin deaminasyonu ile açığa çıkan amonyak miktarı ölçümüne dayanmaktadır, enzim aktivitesi birim zamanda üretilen amonyak miktarı cinsinden IU/L olarak bildirilmiştir. Ölçümler Beck-

man model 25 spektrofotometrede yapılmış, tüm kimyasallar Sigma Chemical Co.'dan satın alınmıştır.

İstatistiksel değerlendirmeler için Students' t testi ve Pearson korelasyon analizleri yapılmıştır.

SONUÇLAR

Yassı hücreli larenks kanseri olan hastaların serum ADA ve CD aktiviteleri kontrol grubuna göre yüksek olarak belirlenmiştir. ADA aktivitesi için toplam hasta grubunun (n=62) ort. \pm SD değeri 22.28 ± 6.32 IU/L, kontrol grubunun (n=24) ise 13.52 ± 1.86 IU/L. (p<0.001) idi. CD aktivitesi için de yine aynı gruplarda sırasıyla 16.29 ± 3.95 ve 10.82 ± 1.31 IU/L. (p<0.001) bulunmuştur.

Bunun yanı sıra olguların TNM sınıflaması yapılarak hastalar 4 gruba ayrılmıştır. Her evredeki enzim aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir. Hastaların serum enzim aktivitelerindeki artışın genel olarak hastalığın evresiyle doğru orantılı olduğu, yani evre ilerledikçe enzim düzeylerinde de artış olduğu gözlenmektedir.

Serum ADA ve CD aktiviteleri, tümörlü hastalarda her bir evredeki hasta grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek görülmüştür (Tablo 2).

Hasta grubunun evreleri kendi aralarında karşılaştırıldığında da ADA için yalnızca I-II. evre için fark bulunamamıştır. CD için de yine erken evrelerde, yani I-II ve I-III için anlamlı fark bulunmazken, diğerlerinde fark olduğu görülmüştür (Tablo 3).

Son olarak, hasta grubu toplam olarak ele alınıp enzim aktiviteleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, serum ADA ve CD aktivitelerinin birbiri ile korele olarak yükseldiği (p<0.01), ayrıca, evre I dışında, diğer ileri evrelerde enzimlerin yine birbiriyle korele olarak artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 1. Kontrol grubunda ve larenks kanserli hasta grubunda evrelere göre serum ADA ve CD aktiviteleri.

Gruplar	ADA (IU/L.) (ort. \pm SD)	CD (IU/L.) (ort. \pm SD)
Kontrol (n=24)	13.52 ± 1.86	10.82 ± 1.31
Evre I (n=10)	18.41 ± 2.95	14.91 ± 2.19
Evre II (n=14)	16.80 ± 4.17	13.92 ± 2.36
Evre III (n=28)	26.45 ± 5.62	16.47 ± 3.78
Evre IV (n=10)	22.11 ± 4.48	20.78 ± 3.27

Tablo 2. Kanser ve kontrol grubunun serum ADA ve CD aktivite-leri bakımından karşılaştırılması.

Gruplar	ADA (IU/L.)	CD (IU/L.)
Toplam hasta grubu-kontrol	p<0.001	p<0.001
Evre I-kontrol	p<0.001	p<0.001
Evre II- kontrol	p<0.01	p<0.001
Evre III-kontrol	p<0.001	p<0.001
Evre IV- kontrol	p<0.001	p<0.001

Tablo 3. Kanser grubunun evrelere göre serum ADA ve CD aktivite-leri bakımından karşılaştırılması.

Gruplar	ADA (IU/L.)	CD (IU/L.)
Evre I-II	anlamli değil	anlamli değil
Evre I-III	p<0.001	anlamli değil
Evre I-IV	p<0.05	p<0.001
Evre II-III	p<0.001	p<0.05
Evre II-IV	p<0.01	p<0.001
Evre III-IV	p<0.05	p<0.01

Tablo 4. Toplam hasta grubunda ve herbir evrede serum ADA ve CD artışı arasındaki korelasyon analizi.

Gruplar	ADA-CD Korelasyon analizi
Toplam hasta grubu	p<0.01
Evre I	anlamli değil
Evre II	p<0.01
Evre III	p<0.05
Evre IV	p<0.001

TARTIŞMA:

Bilindiği gibi, hemen tüm malign hastalıklarda en iyi tedavi şansı hastalığın erken saptanmasına bağlıdır. Erken tanının sağlanması amacıyla, son yıllarda birçok tümör belirleyici ya da potansiyel taşıyan belirleyiciler keşfedilmiştir. Bunların bir kısmı da rutin laboratuvar-da yerini almış durumdadır.

Larenks kanseri için bugün, ideal bir tümör belirleyicisi yoktur. Ancak, hem ideal bir tümör belirleyicisi bulmak hem de altta yatan olası mekanizmaları ortaya çıkarmak için çalışmalar sürdürülmektedir. Bu amaçla pürin ve pirimidin metabolizması, pek çok malign hastalıkta tümör gelişimi ve ilerlemesine ışık tutmak üzere en çok incelenen konu olmuştur. Literatürde larenks kanserinde her iki yolu birden değerlendi-

ren bir araştırmaya rastlanmamaktadır. Buradan yola çıkarak, başlangıç olarak ve daha pratiğe uygulanabilir sonuçlar elde edebilmek amacıyla, larenks kanserli hastaların serumlarını kullanarak pürin-pirimidin yolunu incelemeyi düşündük ve her iki yolu temsilen ADA ve CD aktivitelerini ölçmeyi planladık.

ADA, aktivitesi birçok malign hastalıkta yükselen bir enzimdir. Barsak ve meme kanserlerinde, doku ADA aktivitelerinin normal dokuya oranla yüksek bulunduğu bildirilmiştir (11). Mesane ve akciğer kanseri üzerine yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (19, 20). Baş-boyun kanserlerine ilişkin bir araştırmada da serumda, kontrol grubuna göre yüksek ADA düzeyleri bulunmuş ve radyoterapi sonrasında enzim düzeylerinde düşüş olduğu görülmüştür (21). Bu konuda yapılan son bir çalışmada da, larenks kanserli hastalarda cerrahi eksizyon öncesi ve sonrasında serum ADA aktiviteleri ölçülmüş, hastalarda enzim aktivitesi yüksek bulunurken, pre ve postoperatif fark gösterilememiştir (22). Ancak, görüldüğü gibi araştırmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Üstelik, enzim düzeylerinde yükselme olduğunu bildiren yayınların yanı sıra, kanserde enzimin düştüğünü bildiren çalışmalar da vardır (10, 23), tabii bu durumda hastalık mekanizmasına yönelik açıklamalar da yön değiştirmektedir.

Solid tümör vakalarında CD aktiviteleri ise bugüne kadar pek fazla incelenmemiştir. Az sayıdaki çalışmalardan bir tanesinde kanseröz ve nonkanseroz insan meme dokusunda CD aktivitesi bakımından fark bulunmamıştır (16). Yine 20 adet insan kanser hücre dizisinde CD ekspresyonu incelenmiş, sonuçların oldukça değişken olduğu ve enzimin normal dokulardaki ekspresyonu ile bağlantılı olmadığı gözlenmiştir (15). Larynx kanserinde ise CD düzeyleri ile ilgili bir araştırmaya literatürde rastlanmamıştır.

Larenks kanserinde bugüne kadar incelenen genellikle ADA, dolayısıyla da pürin metabolizması olmuştur. Biz ise, buna ek olarak pirimidin yolunu da incelemeyi düşündük ve araştırmamıza CD aktivite tayini ni de kattık.

Deneylerimizin sonucunda her iki enzim aktivitesinin de kontrol grubundaki sağlıklı kişilere göre hasta grubunda anlamlı derecede yüksek olduğunu bulduk.

Bu konuda yapılan daha önceki çalışmalarda olduğu gibi (21, 22) biz de ADA düzeylerini hasta grubunda hem toplam olarak hem de her bir evre için, kontrol göre yüksek bulduk ve bu yükselmenin tümör kütlesi ve yayılımıyla bağlantılı olarak hastalık evresiyle

paralel olduğunu da gördük (Tablo 1 ve 2). Aynı bulgu serum CD aktivitesi için de geçerlidir. Ayrıca her iki enzim için, erken evreler dışında (ADA için I-II, CD için I-II ve I-III), diğer evreler arasında da anlamlı fark bulunmuştur ve yine iki enzimin evrelere göre gösterdiği artış birbirleriyle koreledir (Tablo 3 ve 4). Bu sonuçlar, her iki enzimin de erken tanıdan çok hastalığın izleminde birlikte kullanılmasının yararlı olabileceği hakkında umut vermektedir.

Enzimlerin yükselmesinde ve hastalık gelişim ve ilerlemesinde altta yatan mekanizmaların aydınlatılabilmesi için daha ayrıntılı doku çalışmalarının geniş serilerde planlanması gerekir. Ancak yine de serumdaki bu istikrarlı enzim yüksekliği için bazı önermelerde bulunulabilir. Serum ADA aktivitelerinin yüksek bulunmasının, primer tümör hücrelerinden veya lenfatik metastazlardan kan dolaşımına enzim sızmasına bağlı olduğu düşünülebilir. Öte yandan, kanserli dokuda yüksek miktarda bulunan ADA enzimi, hipoksantin sentezinin artmasına yol açmakta, hipoksantin de kurtarma arayolunda yeniden kullanılabilir. Pürin

metabolizmasında meydana gelen bu gibi değişimlerin de, neoplastik hücrelere yeniden kullanma yolu için substrat sağlayarak selektif büyüme avantajı verdiği sanılmaktadır (16, 21, 24, 25). CD da benzer şekilde pirimidin yolunda, sitidin ve deoksisitidinin hidrolitik deaminasyonunu katalizleyerek, üridin ve deoksiüridin açığa çıkarmaktadır. Enzimin fizyolojik rolü kesin olarak bilinmemektedir ancak, bu şekilde, nükleik asit yıkılımı ile ortaya çıkan pirimidin nükleozidleri için bir kurtarma yolu sağladığı, reaksiyon ürünleri olan üridin ve deoksiüridin kurtarma yoluyla tekrar kullanılıp tümör gelişiminde pozitif rol oynayabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak, bu araştırmanın her iki enzim yönünden de, hem bunların potansiyel birer tümör belirleyicisi olarak incelenmesi ve bu amaçla gerekli analizlerin yapılması amacıyla klinik çalışmaların hem de hastalık mekanizmasına yönelik olarak doku çalışmalarının planlanması için cesaret verici olduğu ve bir başlangıç oluşturduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR:

1. Edwards YH, Hopkinson DA, Harris H. Adenosine deaminase isozymes in human tissues. *Ann Hum Genet* 1971;35:207-19.
2. Akeda H, Nishihara H, Shinkai K ve ark. Multiple forms of human adenosine deaminase. *Biochim Biophys Acta* 1972;276:257-71.
3. Huang AT, Logue GL, Engelbrecht HL. Two biochemical markers in lymphocyte subpopulations. *Brit J Hematol* 1976;34:631.
4. Simmonds HA, Panayi GS, Corrigan V. A role for purine metabolism in the immune response. Adenosine deaminase activity and deoxyadenosine catabolism. *Lancet* 1978;1:60.
5. Donofrio J, Coleman MS, Hutton JJ ve ark. Overproduction of adenine deoxynucleosides and deoxynucleotides in adenosine deaminase deficiency with severe combined immunodeficiency disease. *J Clin Invest* 1978;62:884-7.
6. Yasmineh WG, Brynes RK, Lam CT ve ark. Adenosine deaminase activity in lymphocytes of normal persons, leukemic patients and kidney transplant recipients. *Clin Chem* 1977; 23: 2024.
7. Sherwood RA. The measurement of nucleoside deaminases by high performance liquid chromatography and their use in clinical chemistry. *Biomed Chromatogr* 1991;5:235-9.
8. Blatt J, Reaman G, Poplack DG. Biochemical markers in lymphoid malignancy. *N Eng J Med* 1980;303:918-22.
9. Morisaki T, Fujii H, Miwa S. Adenosine deaminase in leukemia: Clinical value of plasma ADA activity and characterization of leukemic cell ADA. *Am J Hem* 1985;19:37-45.
10. Dasmahapatra KS, Hill HZ, Dasmahapatra A, Suarez S. Evaluation of adenosine deaminase activity in patients with head and neck cancer. *J Surg Res* 1986;40:368-73.
11. Camcı M, Tozzi MG, Allegrini S ve ark. Purine salvage enzyme activities in normal and neoplastic human tissues. *Cancer Biochem Biophys* 1990;11:201-9.
12. Koizumi H, Iizaka H, Aoyagi T ve ark. Characterization of adenosine deaminase from normal human epidermis and squamous cell carcinoma of the skin. *J Invest Dermatol* 1985; 84: 199-202.
13. Durak İ, Işık AC, Canbolat O ve ark. Adenosine deaminase, 5' nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in cancerous and noncancerous human laryngeal tissues. *Free Radic Biol Med* 1993;15:681-4.
14. Durak İ, Bedük Y, Kavutçu M ve ark. Activity of the enzymes participating in purine metabolism of cancerous and noncancerous human kidney tissues. *Cancer Invest* 1997;15:212-6.

15. Watanabe S, Uchida T. Expression of cytidine deaminase in human solid tumors and its regulation by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochim Biophys Acta* 1996;1312:99-104.
16. Canbolat O, Durak İ, Çetin R ve ark. Activities of adenosine deaminase, 5'nucleotidase, guanase and cytidine deaminase enzymes in cancerous and noncancerous human breast tissues. *Breast Cancer Res Treat* 1996;37:189-93.
17. Giusti G. Adenosine deaminase. In: HV Bergmeyer and Weinheim (eds). *Methods of Enzymatic Analysis*. Deerfield Beach, Fla.: Verlag Chemmie, 1974: 1092-99.
18. Jones DD, Bahijri S, Roberts EL ve ark. Activity of serum cytidine deaminase during pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1982;89:314-17.
19. Sufrin G, Tritsch GL, Mittelman A ve ark. Adenosine deaminase activity in patients with carcinoma of the bladder. *J Urol* 1978;119:343-6.
20. Nishihara H, Akedo H, Okada H ve ark. Multienzyme patterns of serum adenosine deaminase by agar gel electrophoresis:an evaluation of the diagnostic value in lung cancer. *Clin Chim Acta* 1970;30:251-8.
21. Lal H, Munjal SK, Umech W ve ark. Serum enzymes in head and neck cancer III. *J Laryngol Otol* 1987;101:1062-5.
22. Canbolat O, Akyol Ö, Kavutçu M ve ark. Serum adenosine deaminase and total superoxide dismutase activities before and after surgical removal of cancerous laryngeal tissue. *J Laryngol Otol* 1994;108:849-51.
23. Uberti J, Johnson RM, Talley R ve ark. Decreased lymphocyte adenosine deaminase activity in tumor patients. *Cancer Res* 1976;36:2046.
24. Weber G. *Enzymology of cancer cells*. Parts 1 and 2. *New Eng J Med* 1977;296:486-95.
25. Weber G. *Biochemical strategy of cancer cells and the design of chemotherapy*. *GMA Clowes Memorial Lecture Cancer Res* 1983;43:3466-92.