

Kanserde Serum Arginaz Aktivitesi

İclal Meram, Sibel Ahi, Mehmet Tarakçıoğlu

Özet: Bu çalışmada 24 kanserli hastanın serum arginaz aktivitesi Tiyosemikarbazid diasetil monoksim üre yöntemi ile ölçülmüştür. Ek olarak kanserli hastaların serum kan üre azotu, kreatinin, total protein, albumin, alkalin fosfataz düzeyleri ölçülmüş ve enzim aktivitesinin (14.9 ± 9.2 $\mu\text{mol üre/g.protein/saat}$) kontrol olgularından belirgin olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (4.9 ± 3.8 $\mu\text{mol üre/g.protein/saat}$) ($p < 0.001$). Serum total protein, albumin düzeylerinde önemli düşme gözlenirken sırasıyla ($p < 0.01$, $p < 0.001$), kreatinin düzeylerinde ise önemli artış bulunmuştur ($p < 0.05$). Sonuç olarak; serum arginaz aktivitesinin kanserli olgularda kreatinin gibi yükseldiği, total protein ve albumin düzeylerinin ise azaldığı kanısına varılmıştır. Serum arginaz aktivitesi ile diğer parametreler arasındaki korelasyon sonuçları incelendiğinde, kontrol grubunda ilişki gözlenmezken, kanserli grupta kan üre azotu düzeyi ile arginaz aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($r = 0.48$, $p < 0.05$).

Anahtar kelimeler: Arginaz, Kanser

Arginaz (L-arginin üre hidrolaz veya amidinohidrolaz) (EC 3.5.3.1) arginini, üre ve ornitine çeviren hidrolitik bir enzimdir (1-4). Güçlü bir immün sistem inhibitörü olup lenfosit proliferasyonunda inhibitör etkiye sahiptir. Karaciğer, arginaz aktivitesinin en yüksek olduğu dokudur. Ekstra hepatik dokulardaki aktivitesi, karaciğerden belirgin olarak daha düşüktür. Bu dokuların başında eritrositler, lökositler, trombositler, plazma, böbrek, iskelet ve kalp kası, beyin, bağırsak, pankreas, akciğer, epidermis, plasenta laktasyondaki meme bezi, tükürük bezleri, testisler gelmektedir (1).

Kanser en kısa tanımı ile hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmalarıdır (5). Tümörün tedaviye verdiği yanıtın değerlendirilmesi ve metastazların erken dönemde gösterilmesi için bazı tümör belirteçleri (markırları) vardır. Bunlardan bazıları ise karsinoembriyonik antijen (CEA), alfa fetoprotein (AFP), kalsitonin (CT), prostatik asit fosfataz (PAP) şeklinde sıralanabilir (6-8).

Stratus ve ark. (9) yaptıkları bir çalışmada meme kanserinde preoperatif dönemde serum arginaz aktivitesinin sağlıklı kadınlardan 4 kat yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu araştırmacılara göre serum arginaz aktivitesi meme kanserinde duyarlı bir belirteçtir.

Leu ve ark. (1) kolorektal kanserli hastalarda serum arginaz aktivite düzeyini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda kolorektal kanserli dokuların normal mukozal dokulara göre 2 kat fazla arginaz aktivitesine

sahip olduğu görülmüştür.

Wu ve ark. (10) gastrik kanserli hastalarda plazma arginaz aktivitesini kontrollere oranla yüksek saptamışlardır.

Hepatobilier kanaldaki malign tümörlü hastalarda serum arginaz aktivitesinin artması, arginazdan zengin karaciğer hücrelerinden enzim salındığını göstermektedir. Bu durum akut hepatitte de serum arginaz aktivitesinin yükselmesine yol açmaktadır (5).

Bu çalışmada immün sistem inhibitörü olan serum arginazının kanserli dokudan etkilenebileceğini düşünüp, bunun bazı enzimlerle ve biyokimyasal parametrelerle olan ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda yaşları 35-70 arasında olan 13'i kadın, 11'ü erkek 24 kanserli hasta alınmıştır (Yaş ortalaması 53.8 ± 10.6). Ayrıca yaşları 26-70 arasında olan 13'ü kadın, 11'i erkek 23 kişiden oluşan bir kontrol grubu kullanılmıştır (Yaş ortalaması 48.0 ± 13.5). Kanserli ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel bir farklılık yoktur (student t testi $p > 0.05$).

Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında serum arginaz aktivite düzeyleri ölçülmüş ve karşılaştırılmıştır. Ayrıca kanserli hastalardan 6'sında postoperatif serum arginaz aktivite düzeyleri ölçülmüştür, ancak sayı az olduğundan istatistiksel değerlendirmelere alınmamıştır. Serum arginaz aktivitesi Tiyosemikarbazid diasetil monoksim üre (TDMU) yöntemiyle ölçülmüştür (11,12).

Sağlıklı ve kanserli hastalardan alınan venöz kan oda ısısında 30 dakika bekletilip pıhtılaşması sağlandıktan sonra 2000 rpm'de 5

Gaziantep Üniv. Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Gaziantep

Yazışma adresi: Dr İclal MERAM

Gaziantep Üniv. Tıp Fakültesi Biyokimya AD, GAZİANTEP

dakika santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir. Serum 5 mmol/l Mn^{++} çözeltisi ile 1:10 oranında sulandırıldıktan sonra 5°C’de 8 dakika preinkübasyona tabi tutulmuştur. Preinkübasyonun ardından 0.4 ml L- Arginin (1 ml son hacimde 25 mmol/l), 0.4 ml Karbonat tamponu (1 ml son hacimde 40 mmol/l pH: 9.7) ile hazırlanan °C ve 37 °C tüplerine 0.2 ml serum eklenmesinden sonra 37°C 60 dakika inkübasyon bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda tepkimeyi durdurmak ve serum proteinlerini çöktürmek amacıyla 1.0 ml’lik inkübasyon ortamına 0.5 ml 1 N HClO₄ eklenmiştir. 5 dakika 5000 rpm’de santrifüjün ardından elde edilen süpernatantta üre düzeyi spektrofotometrik ölçülmüştür. Deney sırasında sıfır zaman körü kullanılmıştır. Tüm kimyasal maddeler Merck (Darmstad, Germany) ve Sigma (St. Louis, USA) firmalarından sağlanmıştır. Serum arginaz aktivitesi Ünite olarak verilmiştir. 1 ünite enzim aktivitesi bir dakikada 1 µmol üreyi oluşturan arginaz aktivitesi olarak tanımlanmış ve serum total protein düzeyinin oto-analizörde ölçülmesinin ardından µmol üre/g protein/saat türünden verilmiştir. Ayrıca bu hastalarda serum kan üre azotu (BUN), kreatinin, total protein, albumin, alkalin fosfataz (ALP) düzeyleri ölçülmüştür. Bu parametreler ise oto-analizörde (Beckman Synchron Cx5) çalışılmıştır. İstatistiksel değerlendirmelerde student t testi ve korelasyon analizi kullanılmıştır.

Bulgular

Kanserli hastaların kanser tipleri Tablo I’de verilmiştir.

Kanserli hastalarda preoperatif olarak elde edilen serum arginaz aktivitesi ve biyokimyasal parametre değerleri Tablo II’de verilmiştir.

Serum arginaz aktivite düzeyi bakımından kanserli grubun preoperatif sonuçları (14.9 ± 9.21 µmol üre/g.protein/saat) ile kontrol grubunun (4.9 ± 3.8 µmol üre/g.protein/saat) sonuçları arasında önemli fark olup (p<0.001), postoperatif sonuçlarında düşme gözlenmiştir. Ancak ameliyat sonrası örnek toplamamızda güçlükler olduğundan bu grup olgu sayısı azlığından dolayı istatistiksel olarak değerlendirilemeyip yalnızca aritmetik ortalaması alınabilmiştir (7.8 µmol üre/g protein/sa. n=6). Yine de bu değerler kontrol grubu enzim aktivitesinin üstündedir. Kreatinin düzeyi de arginaz aktivitesi gibi artarken (p<0.05), total protein, albumin düzeyleri hasta

grubunda kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur sırasıyla (p<0.01, p<0.001). Serum arginaz aktivitesi ile diğer parametreler arasında ilişki olup olmadığını araştırdığımızda, kontrol grubunda ilişki gözlenmezken, kanserli grupta BUN düzeyi ile arginaz aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (r = 0.48, p<0.05).

Tablo I: Hasta grubunda kanser tipleri

Kanser türü	Kadın	Erkek
Akciğer		
*Epidermoid		1
*Squamöz hücreli		1
*Diğerleri		2
Böbrek	1	3
Mesane		1
Mide	1	
Meningiom	3	1
Multipl miyelom		1
Meme	3	
Porto cerebellar kese		1
Pankreas	2	
Tiroid	1	
Serviks	2	
Toplam	13	11

Tablo II: Kanserli ve kontrol grubunun serum arginaz aktivitesi ve bazı biyokimyasal parametre düzeyleri (ortalama ± SD).

Analiz	Kontrol n:23	Kanser n:24
Serum arginaz aktivitesi (µmol üre/g.protein/saat)	4.9 ± 3.8	14.9 ± 9.2 ***
BUN (mg/dl)	12.8 ± 3.3	16.2 ± 6.9
Kreatinin (mg/dl)	0.75 ± 0.14	0.92 ± 0.28 *
Total Protein (g/dl)	7.2 ± 4.6	6.5 ± 0.9 **
Albumin (g/dl)	4.7 ± 0.3	3.4 ± 0.6 ***
ALP (Ü/L)	73.4 ± 23.9	92.8 ± 41.7

* p< 0.05, ** p< 0.01, ***p< 0.001

Tartışma

İnsan lenfosit proliferasyonunu inhibe etme yeteneğine sahip inhibitörler ilk defa Schumacher ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. Fare, köpek ve insan karaciğerinden elde edilen homojenatta arginaz aktivitesinin bulunduğu ifade edilirken, arginazın insan karaciğerinde protein inhibitörü etkisi gösterdiği ve bu etkinin

extrasellüler dozla ilgili olduğu rapor edilmiştir. (1,12).

Wu ve arkadaşları peptik ülser ve gastrik kanserli hastalarda serum arginaz aktivite düzeyini incelemişler ve serum aktivite düzeyini gastrik kanserli hastalarda peptik ülserli hastalardan ve sağlıklı kişilerden önemli oranda yüksek bulmuşlardır. Peptik ülserli hastalar ve kontrol grubu arasında bir fark bulunmamıştır. Aynı araştırmacılar gastrik kanserin evresi ile serum arginaz aktivite düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Erken evre gastrik kanserli hastalarda ortalama serum arginaz aktivite düzeyi kontrol grubundan önemli derecede yüksek bulunmakla beraber, ileri evre gastrik kanserde erken evre gastrik kanser ve kontrol grubundan daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Wu ve arkadaşlarına göre artan serum arginaz aktivitesi kanser hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Gastrik kanser dokusu normal gastrik mukozadan daha çok arginaz aktivitesi içermekte ve serum arginaz aktivitesindeki artışın kanserin boyutu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Arginaz aktivitesi kanserli gastrik hücre sitoplazmasında bol miktarda bulunmaktadır (13,14).

Konarska ve arkadaşları kolorektal karsinomlarda arginaz aktivitesini normal mukozadan en az 10 kat yüksek ve adenomlarda görülen hafif dereceli displazide en az 3 kat yüksek olduğunu bulmuşlardır. İncelenen lezyonlara yakın mukoza morfolojik olarak normal olsa da arginaz aktivitesi normal mukozaya göre önemli oranda yüksek olup bu yükseklik tümörde bulunan displazinin derecesi ile ilgili bulunmuştur (15).

Total protein ve albümin düzeylerini kontrollere göre hasta grubunda düşük bulmamız kanser dokusunun yarattığı tahribata bağlı olabilir. Özellikle proteinlerin sentez ve yıkım yeri olan karaciğerde metastaz olması total protein ve albümin düzeyini değiştirmektedir (16). Kreatinin düzeyinin hasta grupta yüksek olması ise kanserli grupta glomeruler filtrasyonun bozulmasından dolayı filtrasyonun azaldığını, bu da renal harabiyetin arttığını gösterir. Glomeruler filtrasyonun ve tübüler fonksiyonun azalması sonucu plazmadaki kreatinin gibi tüm azotlu bileşiklerin konsantrasyonunda artma görülür (17).

Sonuç olarak serum arginaz aktivitesinin kanserli hastalarda yüksek olduğu saptanmıştır. Kanserli dokunun arginaz enzimi ürettiğini veya enzim aktivitesini ileri derecede

arttırdığını düşünebiliriz. Buna bağlı olarak da dolaşıma arginaz enziminin sızması sonucu serum arginaz aktivitesinin artacağını söyleyebiliriz. Çünkü arginaz diğer karaciğer enzimlerinde olduğu gibi kan dolaşımına çıkmaktadır. Postoperatif sonuçlarda serum arginaz aktivitesinin düşük bulunması ise kanser dokusu ile arginaz enziminin çok yakın ilişkide olduğunu gösterir.

Serum Arginase Activity in Cancer

Abstract: *In this study; the serum arginase activity of 24 cancer patients was determined by Thiosemicarbazide diacetyl monoxime urea method. In addition, the serum levels of blood urea nitrogen (BUN), creatinine, total protein, albumin, alkaline phosphatase were measured. The serum arginase activity of cancer patients was found significantly higher ($14.9 \pm 9.2 \mu\text{mol urea/g.protein/h}$) than control group value ($4.9 \pm 3.8 \mu\text{mol urea/g.protein/h}$) ($p<0.001$). Although the levels of total protein, albumin were obtained lower than normal group values respectively, ($p<0.01$, $p<0.001$), the level of creatinine was found higher than normal group value ($p<0.05$). As a result, paralel to the increased levels at creatinine, total protein and albumin, serum arginase activity was high as well. When we analyzed the correlation between serum arginase activity and other parameters. While the control group did not show any correlation, the group of cancer exhibited a positive relation between the level of BUN and arginase activity ($r=0.48$, $p<0.05$).*

Key Words: Arginase, cancer

Kaynaklar

1. Leu SY, Wang SR: Clinical significance of arginase in colorectal cancer. *Cancer*. 70(4): 733–36,1992.
2. Ikemoto M, Ishida A, Tsunekawa S, Ozawa K, Kasai Y, Totani M, Ueda K: Enzyme Immunassay of liver-type arginase and its potential clinical application. *Clin. Chem*. 39(5): 794–99, 1993.
3. Corraliza IM, Campo ML, Soler G, Modobell M: Determination of arginase activity in macrophages: a micromethod. *J. Immun. Meth*. 174: 231-35, 1994.
4. Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD: Comparative properties of arginases. *Comp Biochem. Physiol*. 114B(1): 107-32, 1996.
5. Anderson WAD, Scott TM: Gelişme bozuklukları. In: Kısa patoloji, 3rd ed., Aykan, T.B, Tüzüner, N., Sav, A., İnce, G., Nobel Tıp Yayınevi, İstanbul, 1986, s. 284,
6. Andreoli TE, Carpanter CCJ, Plum F: *Cecil essentials of medicine*, 2nd ed., Baktiroğlu, S., Yüce Yayınları, İstanbul,1991, p:594.

7. Murray RK: Cancer, Oncogenes, Growth Factors. In: Harper's Biochemistry, Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, Appleton and Lange, California., 21 st Ed., 1988, p:639-40.
8. Gaw A, Cowan RA, O'reilly DJ, Stewart MJ, Shepherd J: Clinical Biochemistry, Churchill Livingstone, New York, 1995, p:128-31..
9. Stratus B, Cepelak I, Festa G: Arginase a new marker of mammary carcinoma. Clin Chim Acta. 210: 5-12, 1992.
10. Wu C, Wang S, Chang T et al: Content of glucocorticoid receptor and arginase in gastric cancer and normal gastric mucosal tissues. Cancer 64 (12):2552-56, 1986.
11. Ahi S, Meram İ, Özdemir Y: İnsan serum arginaz enziminin özellikleri ve aktivite ölçümünde duyarlı bir yöntemin geliştirilmesi. Erciyes Tıp Derg. 21(1): 3-9, 1999.
12. Geyer JW, Dabich D: Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. Anal Biochem. 39: 412-17, 1971.
13. Wu, C, Chi CW, Lin EC et al : Serum arginase level in patients with gastric cancer. J Clin Gastroenterol. 18(1): 84-9, 1994.
14. King J: Practical Clinical Enzymology. D. Van Nostrand, London, 1965, p 220.
15. Konarska L, Kolasa T, Albrecht P et al : Can arginase be a marker of the large bowel neoplasia ?. Acta Biochim Polon. 40(1): 164-66 , 1993.
16. Silverman LM, Christensin RH: Amino acids and Proteins. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER, W.B Saunders, Philadelphia, 1994, p: 671-73
17. Whelton A, Watson AJ, Rock RC: Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA, Ashwood ER, W.B Saunders, Philadelphia 1994, p:1560 - 62.