

## KANSERLİ HASTALARDA SERUM VE ERİTROSİT ADENOZİN DEAMİNAZ AKTİVİTELERİ VE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRE DÜZEYLERİ\*

Serum and erythrocyte adenosine deaminase activities levels of and some biochemical parameters in cancer patients

Oya KÖYLÜOĞLU<sup>1</sup>, Yüksel ÖZDEMİR<sup>2</sup>

### Özet

**Amaç:** Bu çalışmada; serum ve eritrosit adenosin deaminaz (ADA) aktivitesinin kanser için marker olup olamayacağını incelemek ve ADA aktivitesi yanısıra bazı biyokimyasal parametrelerini ölçmek amaçlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Yirmi kanserli hasta ve 42 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda serum ve eritrosit ADA aktiviteyi ile aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesi, total protein ve albumin düzeylerini saptadık.

**Bulgular:** Kanserli hastalarda serum ADA aktivitesi ( $23 \pm 6.7$  Ü/L), kontrollere ( $15.1 \pm 2.3$  Ü/L) göre %34 oranında bir artış gösterirken, eritrosit ADA aktivitesi ( $68.6 \pm 23.3$  nmol/saat/mgHb), kontrollere ( $65.9 \pm 17.7$  nmol/saat/mg Hb) göre bir farklılık göstermedi. Kanserli grupta, serum total protein ( $6.8 \pm 0.4$  g/dl) ve albumin ( $3.6 \pm 0.6$  g/dl) düzeyleri kontrollere göre anlamlı bir düşme gösterirken; serum AST ( $34.9 \pm 14.4$  Ü/L) aktivitesi yükseldi ( $p < 0.05$ ).

**Sonuç:** Serum ADA aktivite düzeylerinin bazı kanser tipleri için bir marker olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Adenosin deaminaz, Aminotransferazlar, Albuminler, Neoplazmlar, Proteinler

### Summary

**Purpose:** In the present study, we aimed at determining whether serum and erythrocyte adenosine deaminase (ADA) activity could be a marker for cancer; the levels of some biochemical parameters along with ADA activity were also detected.

**Material and methods:** ADA activities in serum and erythrocytes together with serum aspartate aminotransferase (AST), total protein and albumin were determined in 20 cancer patients and also in the control group which consisted of 42 healthy subjects.

**Results:** Although the serum ADA activity of the cancer patients ( $23.0 \pm 6.7$  U/L) was significantly higher (%34) than that of the control group ( $66.7 \pm 17.8$  U/L), erythrocyte ADA activity ( $68.6 \pm 23.3$  nmol/h/mg Hb) was not significantly different from the controls ( $65.9 \pm 17.7$  nmol/h/mg Hb). Serum total protein ( $6.8 \pm 0.7$  g/dl) and albumin ( $3.6 \pm 0.6$  g/dl) levels of cancer patients were lower and AST activity ( $34.9 \pm 14.4$  U/L) was higher than those of the control group with a statistical significance ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Serum ADA activity can be used as a tumor marker for some types of cancer.

**Key words:** Adenosine deaminase, Aminotransferases, Albumins, Neoplasms, Proteins

Adenosin deaminaz (E.C 3.5.4.4; ADA, Adenosin amino hidrolaz) pürin yıkım yolunun bir enzimi olup adenosin ve 2- deoksiadenozinin sırasıyla inozin ve 2- deoksiinozine dönüşümünü katalize etmektedir (1). Enzim ilk olarak 1939 yılında eritrosit ve serumda saptanmıştır (2). İnsan vücudunda geniş bir dağılıma sahip olan ADA sitoplazmik bir enzimdir ve bazı hücrelerin de çekirdeğinde lokalize olmaktadır (3,4).

Lenfositlerde özellikle T lenfositlerinde yüksek

aktivitede bulunan ADA'nın kalıtsal eksikliği, T ve B lenfositlerin fonksiyonlarının bozulması ile şiddetli kombine immün yetmezlik (ŞKİY) durumuna öncülük etmektedir (5,6). ŞKİY'liği olan hastaların plazma ve idrarında adenosin (Ade) ve 2- deoksiadenozin (dAde) düzeyleri yüksek olup idrarla çok miktarda 2- deoksiadenozin atılmaktadır (7).

Değişik hastalık gruplarında vücut sıvılarında bulunan ADA aktivitesinin yükseldiği bildirilmektedir. Tüberküloz hastalarında, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve periton sıvısında, tüberküloz menenjitte, BOS'ta ADA aktivitesi yüksek bulunmaktadır (8,9). Siroz, peritonel

\* XV. Gevher Nesibe Tıp Günleri, 27-30 Mayıs 1997, Kayseri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi 27310 GAZİANTEP Biyokimya. Kim.Müh.<sup>1</sup>, Doç. Dr.<sup>2</sup>

Geliş tarihi: 21.05.1997

malignansi, alkolik hepatit, kronik aktif hepatit ve hepatomalı hastalarda, tifo ve brusellozlu hastalarda, farklı mikroorganizmalar ile oluşan pnömoni hastalarında serum ADA aktivitesinde anlamlı bir artma görülmektedir (2,10-13). Böbrek hastalarında eritrosit ADA üzerine hemodiyaliz etkisi incelendiğinde, hemodiyaliz öncesi aktivitenin düştüğü ve hemodiyaliz sonrası aktivitenin arttığı bildirilmiştir (14). Serum ADA aktivitesi AIDS'li hastalarda da yüksek bulunmuştur (15).

Değişik kanser gruplarında, biyolojik sıvı ve tümörlerde, ADA aktivitesinin arttığı, kemoterapi sonrasında ise azaldığı bildirilmiştir. T hücre lösemili hastalarda serum ADA aktivitesi, gastrik kanserli hastalarda da gastrik sıvı ADA aktivitesi yüksek bulunmuştur (10,16,17). İnsan kolon tümörleri ve normal kolon mukozal hücrelerinde yapılan çalışmalarda, ADA aktivitesi tümör hücresinde normal mukoza ADA aktivitesine göre daha yüksek olarak saptanmıştır (18,19). Kanserli hastalarda doku ve serum ADA aktivitesindeki artış, bu enzimin tümör hücrelerinden aşırı sentezlenmesi ile açıklanmaktadır (10). Cilt kanseri ve beyin tümürlü hastalarda ise serum ADA aktivitesinin değişmediği bildirilmiştir (15,16).

Bu çalışma, bir grup kanserli hastada serum ve eritrosit ADA aktivitesinin kanser için bir marker olup olmayacağını incelemek amacıyla planlanmıştır. Ayrıca bu hastalarda karaciğerin genel olarak etkilenişinin söz konusu olup olmadığını gözlemek üzere AST aktivitesi, total protein ve albumin düzeyleri de saptanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesinde farklı kliniklerde yatmakta olan 40-70 yaş aralığındaki ( $X \pm SD$ ,  $57 \pm 9.0$ ) 20 kanserli (10 kadın, 10 erkek) hastanın kanları kullanıldı. Kanserli hasta grubunu oluşturan bireylerde kanser tipleri Tablo I'de verilmiştir. Bu hastalar operasyon geçirmemiş

hastalar olup, metastatik durumları hakkında fikir edinilemedi. Kontrol grubu olarak yine aynı hastaneye gelen ve yaş aralığı 19-65 arasında değişen ( $X \pm SD$ ,  $38 \pm 15.0$ ), laboratuvar bulguları bakımından sağlıklı olan 42 (21 kadın, 21 erkek) kişinin kanları kullanıldı.

**Tablo I:** Hasta grubunda kanser türleri

| Kanser Tipi   | Kadın     | Erkek     |
|---------------|-----------|-----------|
| Mide          | 2         | -         |
| Pankreas      | -         | 1         |
| Böbrek        | 2         | 1         |
| akciğer       | -         | 7         |
| Meme          | 1         | -         |
| Tiroid        | 2         | -         |
| Beyin         | 3         | 1         |
| <b>Toplam</b> | <b>10</b> | <b>10</b> |

Kullanılan tüm kimyasal maddeler Merck ve Sigma firmalarından sağlandı. Örnekler iki farklı şekilde hazırlandı. Hemolizat hazırlarken, 10 ml kan heparinli santrifüj tüpü içine alınıp 5 dakika 2000 rpm'de santrifüj edilip üstteki plazma dikkatlice alındı. Eritrositler 3 kez soğuk serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ile yıkandıktan sonra 2.5 mmol MnCl<sub>2</sub> ile orijinal hacme kadar tamamlanarak hemolizat elde edildi. Hazırlanan hemolizatlar çalışma anına kadar -200 °C'de saklanıp çalışma sırasında 1/10 oranında serum fizyolojik ile sulandırıldı. Serum eldesinde 5 ml venöz kan antikoagülan içermeyen santrifüj tüpü içine alınıp, 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 5 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Eritrositlerinden ayrılan serum, çalışma gününe kadar -200 °C'de saklandı. ADA aktivitesi tayininde kullanılan serum, sulandırılmadan çalışıldı.

Serum ve eritrosit ADA aktivitesini ölçmek için, Bertholet yönteminin modifiye şekli olan Giusti yöntemi kullanıldı (3). İnkübasyon ortamında (1.0 ml son hacimde), 12 mmol

adenozin hemisülfat, 50 mmol fosfat tamponu (pH 6.5) ve örnek bulunmaktadır. Serumda 1 ünite ADA aktivitesi, 1mol substratı 37 °C ve 1 dakikada değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak tanımlandı (Ü/L). Eritrositler için ADA aktivitesi dakikada 1 nmol substratı değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak tanımlanıp mg hemoglobine (Hb) oranlanarak (nmol/saat/mg Hb) kullanıldı. Hemoglobin düzeyi Sysmex K-1000 ile, diğer biyokimyasal parametre miktarları ise Beckman Synchron CX-5 otoanalizörü ile ölçüldü.

İstatistiksel analizlerde Student t testi kullanıldı (20).

## BULGULAR

Sağlıklı kişilerde yaşa bağlı olarak elde edilen serum ADA aktiviteleri Tablo II'de görülmektedir.

**Tablo II:** Sağlıklı kişilerde serum ADA aktivitesine yaşın etkisi.

| Yaş   | Cinsiyet | Serum ADA (Ü/L)<br>X±SD |
|-------|----------|-------------------------|
| 19-39 | Kadın    | 15.3±2.1<br>(n:8)       |
|       | Erkek    | 15.2±1.8<br>(n:13)      |
|       | Toplam   | 15.2±1.9<br>(n:21)      |
| 39↑   | Kadın    | 15.0±2.7<br>(n:13)      |
|       | Erkek    | 15.1±2.9<br>(n:8)       |
|       | Toplam   | 15.0±2.7<br>(n:21)      |

\* İstatistiksel karşılaştırma yaşa, cinsiyete göre ve toplam denek sayısı üzerinden yapılmıştır.

Tablodan da görüldüğü gibi serum ADA aktivitesi yaşa bağlı olarak değişiklik göstermemektedir.

Kanser hastalarında elde edilen serum ve eritrosit ADA, AST aktiviteleri ile total protein, albumin değerleri Tablo III'te sunulmuştur.

**Tablo III:** Kanserli hasta ve sağlıklı kişilerde, serum ve eritrosit ADA aktiviteleri ile serumda ölçülen bazı biyokimyasal parametre düzeyleri.

|                              | Cinsiyet | Kontrol<br>X±SD     | Kanser<br>X±SD      | p      | t     |
|------------------------------|----------|---------------------|---------------------|--------|-------|
| Serum ADA<br>(Ü/L)           | Kadın    | 15.0±2.4<br>(n:21)  | 25.1±7.8<br>(n:10)  | <0.001 | 5.40  |
|                              | Erkek    | 15.2±2.2<br>(n:21)  | 20.9±4.8<br>(n:10)  | <0.001 | 4.55  |
|                              | Toplam   | 15.1±2.3<br>(n:42)  | 23.0±6.7<br>(n:20)  | <0.001 | 6.85  |
| Eritrosit ADA<br>(nmol/mgHb) | Kadın    | 66.7±17.8<br>(n:21) | 65.6±26.1<br>(n:10) | >0.05  | 0.14  |
|                              | Erkek    | 65.2±18.0<br>(n:21) | 69.5±15.9<br>(n:10) | >0.05  | -0.65 |
|                              | Toplam   | 65.9±17.7<br>(n:42) | 68.6±23.3<br>(n:20) | >0.05  | -0.48 |
| AST<br>(Ü/L)                 | Kadın    | 27.6±7.0<br>(n:12)  | 34.7±11.6<br>(n:10) | >0.05  | -1.77 |
|                              | Erkek    | 30.9±10.5<br>(n:10) | 35.1±17.7<br>(n:9)  | >0.05  | -0.64 |
|                              | Toplam   | 27.7±7.2<br>(n:22)  | 34.9±14.4<br>(n:19) | <0.05  | -2.06 |
| T.Protein<br>(g/dl)          | Kadın    | 7.0±0.5<br>(n:13)   | 6.7±0.9<br>(n:10)   | >0.05  | 1.34  |
|                              | Erkek    | 7.4±0.4<br>(n:11)   | 6.9±0.4<br>(n:9)    | <0.05  | 3.31  |
|                              | Toplam   | 7.2±0.5<br>(n:24)   | 6.8±0.7<br>(n:19)   | <0.05  | 2.63  |
| Albumin<br>(g/dl)            | Kadın    | 4.5±0.3<br>(n:13)   | 3.8±0.6<br>(n:10)   | <0.05  | 3.84  |
|                              | Erkek    | 4.8±0.5<br>(n:11)   | 3.5±0.6<br>(n:9)    | <0.05  | 5.23  |
|                              | Toplam   | 4.6±0.4<br>(n:24)   | 3.6±0.6<br>(n:19)   | <0.05  | 6.35  |

\*İstatistiksel karşılaştırma yaşa, cinsiyete göre ve toplam denek sayısı üzerinden yapılmıştır.

Tablodan görülebileceği gibi, kontrol grubunda serum ADA aktivitesi  $15.1 \pm 2.3$  Ü/L (n:42) bulunurken, kanserli hastalarda  $23.0 \pm 6.7$  Ü/L (n:20) olarak saptanmıştır. Kanserli hastalarda serum ADA aktivitesi kontrollere göre anlamlı bir artış (%34) göstermiştir ( $p < 0.001$ ). Eritrosit ADA aktivitesi ise kontrollerden anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Her iki grupta da serum ve eritrosit ADA aktivitesi cinsiyetten etkilenmemektedir. Kanserli hastalarda AST aktivitesi yüksek bulunurken ( $p < 0.05$ ), albumin ve total protein miktarları düşük bulunmuştur ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ).

## TARTIŞMA

Değişik kanser gruplarında, biyolojik sıvılarda yapılan bazı çalışmalarda ADA aktivitesinin yükseldiği bildirilmiştir. Koizumi (12) ve Okhawara (16), T hücre lösemili hastalarda serum ADA aktivitesini  $23.6$  Ü/L olarak bulurken, Ungerer ve ark. (1), ALL'li hastalarda daha yüksek serum ADA aktivitesi bildirmişlerdir. Kane ve ark. (6), ALL'li hastaların kanser hücrelerinde ADA aktivitesinin kontrollere göre 23 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise farklı tanı konmuş kanser hastalarında eritrosit ADA aktivitesinin değişmediği, buna karşılık serum ADA aktivitesinin yükseldiği gözlenmiştir ( $p < 0.001$ ). Biz kanser hücrelerinde artan enzim aktivitesinin serum ADA aktivitesini etkilediğini düşünmekteyiz. Bizim hasta grubumuzda bulunan hastaların kanser türleri farklı idi. Tek tür kanser hasta grubu oluşturmak, denek sağlamadaki zorluklardan dolayı olanaksızdı. Biz bu nedenle ancak genel olarak kanser tanısı konmuş ve bu hastalıktan etkilenmiş grupta çalışmamızı yapabildik. Çalışmamızda serum ADA aktivitesinin cinsiyet ve yaştan etkilenmemesi, bu enzim aktivitesinin saptanmasında kontrol ve hasta grubunun yaş aralığının farklı olmasının bir sakınca yaratmayacağı sonucuna götürmüştür.

Başta albumin olmak üzere bazı proteinlerin de

karaciğerde sentez edilmesi, bu organ fonksiyonlarını etkileyecek durumlarda bu maddelerin sentezlenmesini azaltmaktadır (21). Kanserli hastalarda en fazla metastaza uğrayacak organlardan biri karaciğer olduğu için karaciğer yetmezliğinde protein ve albumin sentezleri azalacağından serum düzeylerinde azalma görülebilmektedir. Bizim çalışmamızda, serum total protein miktarlarında anlamlı bir azalma gözlenirken, albumin düzeylerinde de aynı azalma gözlenmiştir. Aynı açıklamayı karaciğer fonksiyon testlerinden biri olan AST aktivitesi için de yapabiliriz. Bizim hasta grubumuzu oluşturan hastalarda her ne kadar karaciğer metastazı varlığını klinik olarak saptayamadıysak da bu organın genel bir etkilenişinin söz konusu olabileceğini söyleyebiliriz.

Bu çalışma sonucunda, kanserli hastalarda serum ADA aktivitesinin kontrollere göre anlamlı bir artış (%34) gösterdiği, dolayısıyla serum ADA aktivitesinin kanser için bir marker olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca kanserli hastalarda serum total protein, albumin ve AST düzeylerinde kontrollere oranla anlamlı bir değişme gözlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Ungerer JPJ, Oosthuizen HM, Bissbort SH, et al. Serum adenosine deaminase: Isoenzymes and diagnostic application. *Clin Chem* 1992;38:1322-1326.
2. Goldberg DM. Serum adenosine deaminase in the differential diagnosis of jaundice. *BMJ* 1965;1:353-355.
3. Giusti G. Adenosine deaminase. In: Bergmeyer HU (ed), *Methods of Enzymatic Analysis* (2nd ed). Academic Press, New York 1974, pp 1092-1099.
4. Centelles JJ, Franco R. Rapid purification of adenosine deaminase from rat liver. *Biochem Soc Trans* 1987;15:884-885.
5. Chen SH, Ochs HD, Scott CR. Adenosine deaminase deficiency. *J Clin Invest* 1978;62:1386-1389.

6. Kane BJ, Kuhn JG, Roush MK. Pentostatin: an adenosine deaminase inhibitor for the treatment of hairy cell leukemia. *Ann Pharmacother* 1992;26:939-947.
7. Bory C, Bouliou R, Souillet G, et al. Comparison of red cell transfusion and polyethylene glycol-modified adenosine deaminase therapy in a adenosine deaminase deficient child: measurement of erythrocyte deoxyadenosine triphosphate as a useful tool. *J Pediatr Res* 1990;28:127-130.
8. Segura RM, Pascual C, Ocana I, et al. Adenosine deaminase in body fluids: A useful diagnostic tool in tuberculosis. *Clin Biochem* 1989;22:141-148.
9. Gakis C, Calia GM, Naitana AGV, et al. Serum and pleural adenosine deaminase activity. *Chest* 1991;99:1555-1556.
10. Balis ME. Adenosine deaminase and malignant cells. *Ann NY Acad Sci* 1985;451:142-149.
11. Bhargava DK, Grupta M, Nijhavan S, et al. Adenosine deaminase (ADA) in peritoneal tuberculosis: diagnostic value in ascitic fluid and serum. *Tubercle* 1990;71:121-126.
12. Koizumi H, Tomizawa K, Tanaka H, et al. Clinical significance of serum adenosine deaminase activity in patients with mycosis fungoides. *J Dermatol* 1993;20:394-399.
13. Klockars M, Kleemola M, Leinonen M, et al. Serum adenosine deaminase in viral and bacterial pneumonia. *Chest* 1991;99:623-626.
14. Severini G. Uremic toxins and adenosine deaminase activity. *Clin Biochem* 1994;27:273-276.
15. Donma MM, Donma O. Diagnostic efficacy of adenosine deaminase for future therapeutic approaches in immuno-deficiency disorders. *Lab Med Intern* 1996;13:16-19.
16. Koizumi H, Ohkawara A. Adenosine deaminase activity in sera of patients with psoriasis, mycosis fungoides and adult T cell leukemia. *Acta Dermatol Venereol* 1992;72:410-412.
17. Namiot Z, Kemon A, Stasiewicz J, et al. Adenosine deaminase activity in gastric cancer. *Can Lett* 1994;82:95-98.
18. Trotta PP, Balis ME. Characterization of adenosine deaminase from normal colon and colon tumors. Evidence for tumor-specific variants. *Biochemistry* 1978;17:270-277.
19. Sanfilippo O, Camici M, Tozzi MG, et al. Relationship between the levels of purine salvage pathway enzymes and clinical/biological aggressiveness of human colon carcinoma. *Biochem Biophys* 1994;14:57-66.
20. Saunders BD, Trapp RG. Basic and clinical biostatistics. Appleton Lange, Connecticut 1990, pp 99-111.
21. Calbreath DF. Clinical Chemistry. A Fundamental Textbook. WB Saunders, Philadelphia 1992, pp 226-227.