

## NORMAL VE KANSERLİ OLGULARDA LÖKOSİT İÇİ 3', 5'-SİKLİK ADENOZİN MONOFOSFAT (cAMP) SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ

Dr. İdris AKKUŞ\*, Dr. Ferhat TÜRKMEN\*\*, Süleyman TÜRK\*\*\*,

Dr. Ebubekir BAKAN\*\*\*\*, Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN\*\*\*\*

\*S.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı, \*\*İç Hastalıkları Uzmanı,

\*\*\*S.Ü.T.F. İç Hastalıkları Anabilim Dalı, \*\*\*\*A.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı

### ÖZET

*Bu çalışmada 27-56 yaşları arasında toplam 25 sağlıklı şahıs ile 30-72 yaşları arasında 37 kanserli hastada lökosit içi cAMP değerleri arasında önemli bir fark bulunmadığı anlaşıldı. Bulgularımız literatür değerleri ile tartışıldı.*

*Anahtar Kelimeler: cAMP, kanser, lökosit.*

### SUMMARY

*Determination of Intraleukocytic 3',5'-Cyclic Adenosine Monophosphate Levels (cAMP) in Normal and Patients With Cancer*

*In this study we have determined intraleukocytic 3', 5'-cyclic adenosine monophosphate levels of 25 healthy subjects aged between 27-56 years and 37 patients with cancer aged between 30-72 years. There was no significant difference between values of the two groups. Our results were discussed with literature findings.*

*Key Words: cAMP, cancer, leukocyte.*

### GİRİŞ

Son yıllarda hücre kültürleri üzerinde yapılan çalışmalarda birçok hormon için ikinci bir haberci olan 3', 5'-siklik adenozin monofosfat (cAMP)'ın normal hücrelerin çoğalmalarını kontrol ettiği, neoplastik hücrelerde ise hücre içi 3', 5'-siklik adenozin monofosfat miktarının azalması sonucu bu etkiyi gösteremediği anlaşılmıştır (1,2,3). Nitekim çoğalmakta olan normal veya transforme hücre ortamına cAMP, dibütiril cAMP veya teofilin ilave edildiğinde hücre çoğalmasının yavaşladığı veya tamamen durduğu ve bozulmuş morfolojilerinin normale döndüğü tesbit edilmiştir (4,5).

Wood ve arkadaşları (6) insan neoplazmalarında plazma ve idrar cAMP seviyesinde önemli bir değişiklik olmadığını, Gennari ve arkadaşları (7) ise kanserli hasta grubunda idrar cAMP seviyesinin normal şahıslarinkinden önemli derecede düşük, plazma seviyelerinin ise pek farklı olmadığını tesbit etmişlerdir. Tarafımızdan yapılan başka bir çalışmada (8) da kanserli hastalarda plazma cAMP seviyesinin normallere göre daha düşük olduğu ancak bu düşüklüğün kesin teşhisi koyduracak seviyede ol-

madığı tesbit edilmiştir.

Kanserli dokularda hücre içi cAMP seviyesinin normal dokulara göre çok düşük olması (2,3,4,5) bu maddenin erken teşhis için kullanılabileceğini göstermektedir. ancak, yukarıda da görüldüğü gibi plazma ve idrar cAMP seviyesi üzerine yapılan çalışmaların sonuçları birbirlerine pek uymamaktadır. Biz de bu noktadan hareketle ve kan numunelerinin doku numunelerinden daha kolay alınabildiğini de düşünerek hem kanserde (özellikle epitel orijinli kanserlerde) lökosit içi cAMP seviyesindeki değişimleri tayin etmek, hem de bu tayinin erken teşhiste faydalı olup olmayacağını tesbit etmek istedik.

### MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda 30-72 yaşları arasında (ortalama 46.5) klinik muayene ve laboratuvar bulguları ile kanser teşhisi konmuş 24 erkek ve 13 kadın toplam 37 hastanın; kontrol grubu olarak 27-56 yaşları arasında (ortalama 44) 18 erkek 7 kadın toplam 25 sağlıklı şahsın venöz kanında lökosit içi cAMP tayini yapıldı. Kanserli hasta grubunun 9'unda akciğer,

4'ünde prostat, 3'ünde özefagus, 5'inde mide, 3'ünde kolon, 4'ünde karaciğer, 2'sinde rektum, 2'sinde tiroid, 2'sinde uterus ve 3'ünde meme kanseri mevcuttu.

Hasta grubunda çeşitli laboratuvar çalışmaları ile teşhis konulduktan sonra herhangi bir tedaviye başlamadan önce kan numuneleri alındı. Hasta ve sağlam şahıslardan saat 08 ila 09 arasında heparinize tüplere 5 ml. venöz kan alındı. Daha sonra lökositlerin izolasyonu Fallon ve arkadaşları (9), Yeh ve arkadaşları (10) ve Kelpner ve arkadaşları (11)'nin metodlarından modifiye edilerek aşağıdaki şekilde yapıldı.

Plastik bir enjektöre alınan 5 ml. heparinize kan üzerine 2.5 ml. %6'lık dekstran ilave edilip yavaşça birkaç kez alt üst edildikten sonra enjektör dik bir konumda bir supora yerleştirilerek oda ısısında eritrositlerin çökmesi için yaklaşık 90 dakika beklenildi.

Bu süre sonunda, lökosit ve trombositce zengin ve bir miktarda eritrosit ihtiva eden süpernatant faz, plastik bir tüpe alınarak 3-4 ml. kadar EDTA'lı fizyolojik tuzlu su ile muamele edilerek 160xg'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Trombositce zengin süpernatant faz dekante edilerek nispeten eritrositler ile kontamine olmuş ilk lökosit paketi elde edilmiş oldu. Bu eritrositleri de ortamdan uzaklaştırmak için

ozmotik şok uygulaması yapıldı. Osmotik şoktan sonra nispeten saf lökosit paketi 4 ml. kadar fizyolojik tuzlu su ile toplam üç kez yıkandı. Son yıkamadan sonra 2 ml. fizyolojik tuzlu su eklenerek lökosit paketi süspansiyon haline getirildi. Bu şekilde hazırlanan süspansiyon genellikle  $2-8 \times 10^6$  lökosit/ml ihtiva etmektedir. Hazırlanan bu süspansiyondan 0.2 ml. kadar alındı ve üzerine eşit hacimde soğuk %10'luk TCA ilave edildi. Santrifüjasyondan sonra süpernatant faz alınarak New England Nuclear firmasından alınan ticari kit (125I-cAMP) prosedürüne göre cAMP miktarı radioimmünoassay metoduyla tayin edildi. Her bir şahıs için cAMP tayini üçer defa tekrar edilerek sonuçların doğruluğu sağlandı. Sonuçlar pikomol/ $10^6$  hücre cinsinden hesaplandı.

### BULGULAR

Bulgular "istatistiki olarak kantitatif ortalamaların incelenmesi metodu" ile değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1'den görüldüğü gibi normal ve kanserli şahısların lökosit içi cAMP seviyeleri arasında yapılan "t" testinde istatistiki yönden önemli bir fark bulunamamıştır. Ayrıca Tablo 1'de sonuçların değişim aralığı da verilmiştir.

Tablo 1: Normal ve kanserli şahısların lökosit içi cAMP seviyeleri

Parametre	Grup	n	$\bar{X}$	$\pm$ SD	Değişim Aralığı (alt ve üst sınırlar)	t	p
Lökosit içi cAMP seviyesi (pmol/ $10^6$ lökosit)	Normal	25	12.58	6.48	7.34 - 26.7	0.48	>0.5
	Kanserli	37	7.13	6.86	0.52 - 22.5		

### TARTIŞMA

Çalışmamızda, sağlam şahısların lökosit içi cAMP seviyeleri  $12.58 \pm 6.48$  pmol/ $10^6$  lökosit, kanserli hastalarının  $7.13 \pm 6.86$  pmol/ $10^6$  lökosit olarak tesbit edildi. Tablo 1'den görüldüğü gibi her iki gruba ait lökosit içi cAMP değerleri arasında istatistiki manada önemli bir fark tesbit edilememiştir.

Yine Tablo 1'den görüldüğü gibi her iki grubun

değişim aralığı (alt ve üst sınırları) birbirinden tam ayrılamamıştır. Ayrıca, standard sapmalar da oldukça büyüktür. Dolayısı ile bazı kanserli olgularda lökosit içi cAMP seviyesi çok düşük olduğu halde, diğer bazı olguların normal sınırlarda kalmıştır. Bu yüzden lökosit içi cAMP seviyesinin her çeşit kanser olgusunda teşhis için kullanılamıyacağı anlaşılmaktadır. O halde kanser olgularını kendi aralarında gruplandırarak çalışmanın bazı kanser tiplerinde teşhise

faydalı olacağı kanaatindeyiz. Ancak biz çeşitli kanser tiplerinden istatistiğe girebilecek kadar olgu bulamadığımızdan böyle bir gruplandırma yapamadık.

Öte yandan, literatürde bizim çalışmamıza benzer bir çalışmaya da rastlayamadık. Ancak Gillian ve Peterz (12) daha az sayıdaki (beş kişi) olgu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, kronik granülositik lösemide lökosit içi cAMP seviyesinin normal lökositlerinkinden 5 kat daha düşük olduğunu tesbit etmişlerdir. Buna benzer bir çalışmada Peracchi ve arkadaşları (13) tarafından yapılmıştır. Lökosit içi cAMP metabolizması ile ilgili bu kadar az çalışmaya rağmen, kanserde cAMP ve diğer nükleotidlerin metabolizmaları hususunda gerek in vitro gerekse in vivo çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Nitekim Du Rubertis ve arkadaşları (14) insan kolon adenokarsinomasında kanserli dokuya ait doku içi cAMP seviyesinin komşu normal dokularinkinden daha düşük olduğunu göstermişlerdir.

Cho-Chung ve Berghoffer (15) sıçan meme tümörlerinin ve sıçan hepatomasının cAMP'in bir türevi olan dibütiril cAMP ile tedavi sonucu büyümelerinin durduğunu tesbit etmişlerdir. Ayrıca lenfosarkoma, sıçan meme tümörleri ve insan epidermoid kanserlerinin de cAMP ve dibütiril türevi ile tedavileri sonucu büyümelerinin yavaşladığı gösterilmiştir (16).

Netice olarak, hem bizim çalışmalarımıza hem de diğer araştırmacıların çalışmalarına göre, kanserde, başta cAMP olmak üzere, siklik nükleotidlerin metabolizmalarında önemli değişiklikler olmaktadır. Dolayısı ile bu değişikliklerin hangi seviyede ve sebeplerinin neler olduğunun tam olarak tesbit edilmesi ve kanserde siklik nükleotid metabolizmasındaki bozuklukların aydınlatılmasının kanserin etiolojisi, erken teşhisi ve tedavisi hususunda önemli ilerlemeler sağlayacağı kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Martin DW, Mayes PA, Rodwell VW, Granner DK. Harper's Review of Physiological Chemistry. Beirut: Lange Med Publ, 1985: 507-512.
2. Emmelot P. Biochemical properties of normal and neoplastic cell surfaces. Eur J Cancer 1973; 9: 319-333.
3. Monohan TM, Fritz RR, Abell CW. Levels of cAMP in Murine L5178Y lymphoblasts grown in different concentrations of serum. Biochem Biophys Res Commun 1973; 55: 642.
4. Matsumoto K, Uno I, Ishikawa T. Control of cell division in *Saccharomyces Cerevisiae* mutants defective in adenylate cyclase and cAMP-dependent protein kinase. Exp Cell Res 1983; 146: 151-161.
5. Peerlyc CV, Johnson GS, Pastan I. Adenyl cyclase in normal and transformed fibroblasts in tissue culture. J Biol Chem 1971; 246: 5785-5789.
6. Wood PJ, Ross G, Smith CL. Plasma and urine cyclic nucleotides levels in malignant disease and cirrhosis of the liver. J Clin Pathol 1979; 32: 998-1002.
7. Gennari CG, Francini G, Galli M, Lore F. Urinary excretion of cAMP and cGMP in malignancy. J Clin Pathol 1978; 31: 735-741.
8. Akkuş İ, Balkan N, Değer O. Kanserli hastalarda plazma 3', 5'-siklik adenozin monofosfat seviyelerinin incelenmesi. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Araştırma Dergisi (Baskıda).
9. Fallon IJ, Frei E, Davidson JD. Leukocyte preparation from human blood, evaluation of their morphological and metabolic state. J Lab Clin Med 1962; 59: 779-782.
10. Yeh AK, Tulsiana DHP, Cerubelli R. Neuraminidase activity in human leukocytes. J Lab Clin Med 1971; 78: 771-773.
11. Kelpner MS, Gallin JI. Separation and functional characterization of human neutrophil subpopulations. Blood 1978; 51: 659-669.
12. Gillian PS, Peters TS. Studies on activities kinetic properties and subcellular localisation of cyclic AMP phosphodiesterase in human neutrophil leukocytes. Clin Chim Acta 1980; 103: 193-198.
13. Pericchi M, Mailo AT, Lombardini L. Patterns of cyclic nucleotides in normal and leukaemic human leucocytes. Br J Cancer 1980; 41: 360-370.
14. Du Rubertis FR, Chayoth R, Field JB. The contents and metabolism of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate in adenocarcinoma of the human colon. J Clin Invest 1976; 57: 641-644.
15. Cho-Chung YS, Berghoffer B. The role of cyclic AMP on neoplastic cell growth and regression II, growth arrest and G6PD isozyme shift by dibutyl cAMP. Biochem Biophys Res Commun 1974; 60: 538-534.
16. Hickie RA, Walker CM, Croll GA. Decreased basal cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate levels in Morris hepatoma. Biochem Biophys Res Commun 1975; 59: 167-173.