

## ÇEŞİTLİ KANSER VAKALARINDA VE SAĞLIKLI KİŞİLERDE GLUTATYON -S- TRANSFERAZ (GST) İZOENZİMLERİ, TPA VE $\beta$ 2 MİKROGLOBULİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI\*

Dr. İdris AKKUŞ\*, Dr. Hüseyin VURAL \*, Dr. Mehmet AKÖZ \*,  
Dr. Osman ÇAĞLAYAN\*, Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ\*

\*S.Ü.T.F. Biyokimya ABD

### ÖZET

Bu çalışmada 17-87 yaşları arasında 62 (24 K, 38 E) kanser vakası ile 21-59 yaşları arasında 35 (24 E, 11K) sağlıklı kişide serum TPA,  $\beta$ 2 - mikroglobulin ve GST izoenzimleri araştırıldı. Hastalara aid TPA,  $\beta$ 2-mikroglobulin, GST- $\Pi$  ve GST- $\alpha$  düzeyleri sırası ile  $356.3 \pm 59.4$  U/L,  $3.74 \pm 1.68$   $\mu$ g/ml,  $28.4 \pm 13.3$  ng/ml ve  $4.74 \pm 3.95$  ng/ml olarak bulunmuşken kontrollere aid aynı değerler  $74.1 \pm 34.6$  U/L,  $2.55 \pm 0.66$   $\mu$ g/ml,  $22.1 \pm 10.8$  ng/ml ve  $4.57 \pm 3.2$  ng/ml olarak bulundu. Her iki gruba aid TPA,  $\beta$ 2-mikroglobulin ve GST- $\Pi$  düzeyleri arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğu bulundu. Öte yandan kanser vakalarında GST- $\mu$  düzeyinin %60 oranında pozitif olduğu görüldü. Bu değer sağlıklı kişiler için verilen değerle aynıdır.

Sonuç olarak kanser vakalarında yukarıdaki parametrelerin birlikte tayinlerinin kanser teşhisine yardımcı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kanser, GST izoenzimleri, TPA,  $\beta$ 2-mikroglobulin.

### SUMMARY

**Serum TPA,  $\beta$ 2- Microglobulin and GST-Isoenzymes of Cancer Patients.**

In the present study, serum TPA-  $\beta$ 2-microglobulin and GST isoenzymes of 62 cancer patients (24 F, 38M) aged between 17-87 years and 35 (11 F, 24 M) healthy controls aged between 21-59 years were investigated. TPA,  $\beta$ 2-microglobulin, GST- $\Pi$  and GST- $\alpha$  of cancer patients were  $356.3 \pm 59.4$  U/L,  $3.74 \pm 1.68$   $\mu$ g/ml,  $28.4 \pm 13.3$  ng/ml and  $4.74 \pm 3.95$  ng/ml whereas those of controls were  $74.1 \pm 34.6$  U/L,  $2.55 \pm 0.66$   $\mu$ g/ml,  $22.1 \pm 10.8$  ng/ml, and  $4.57 \pm 3.2$  ng/ml respectively. The differences between TPA,  $\beta$ 2-microglobulin and GST- $\Pi$  of the groups were statistically significant. On the other hand, GST- $\mu$  of 42 cancer patients (60%) were positive. That percentage is similar to that of healthy people. As a result, simultaneously determination of the above parameters was concluded to be a significant criterion in the diagnosis of cancer.

Key Words : Cancer, GST isoenzymes, TPA,  $\beta$ 2-microglobulin

### GİRİŞ

Glutation -S- transferaz (GST)'lar E.C.2.5.1.18 kodlu herbiri iki alt birimden oluşmuş (dimerik) bir enzim ailesi olup ilk defa 1961 yılında tanımlanmışlardır. O zamandan beri bu enzimler üzerinde yoğun olarak çalışmalar yapılmakta ve her geçen gün yeni izoenzim tipleri bulunmaktadır. Kse-

nobiotiklerin (yabancı maddeler) biotransformasyonunda önemli rol almalarından dolayı biyokimyacılar ilaveten genetikçiler, klinisyenler, farmakolojistlerin ilgisini çeken bir enzimdir (1, 2).

Özellikle araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı GST'ler Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi gös-

Haberleşme Adresi: Doç. Dr. İdris AKKUŞ, S.Ü.T.F. Biyokimya ABD, KONYA

\* 6-9 Kasım 1994 tarihleri arasında Antalya'da yapılan XI. Ulusal Türk Gastroenteroloji Kongresi'nde tebliğ edilmiştir.

tererek bir defans mekanizması oluştururlar (3).



GST'ler geleneksel olarak üç sitozolik bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Sitozolik GST'ler izoelektrik noktaları ve SDS-poliakrilamid jel elektroforezindeki molekül ağırlıklarına göre,  $\alpha$  (bazik),  $\pi$  (asidik),  $\mu$  (nötral) diye isimlendirilirler (4,5).

Bazik GST'nin  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , isimli, benzer aminoasid kompozisyonu ve immünolojik karakterlere sahip 5 değişik şekli bulunmaktadır. Nötral sınıfı GST'lerin ise çok benzer iki formu bildirilmiştir. Bunlar  $\mu$  ve  $\psi$ 'dir (6).

Homodimer veya heterodimerik enzimler olan GST'lerin, araştırılan tüm canlı türlerinde bulunması bunların hayati öneminin göstergesidir. Bu enzimler katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; yabancı maddeleri glutatyon (GSH)'deki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu (GSH) konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. GSH'dan glutamat ve glisin koparılmasından sonra sisteinin serbest amino grubu asetillenerek merkaptürik asitlere dönüştürülür. Ksenobiotikleri (zararlı yabancı maddeler) klasik atılım ürünleri olan bu merkaptürik asitler, yani N-asetil sisteinin S-alkile olmuş türevleri, daha sonra safra ile atılırlar (7,8).

Bu yol GST'lerin kanserojen, mutajen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda rolleri olduğunu göstermektedir (3,9).

GST- $\pi$ 'nin çekirdekte bulunması; sitozolden gelen genotoksik maddeleri detoksifiye etmelerini yada hormon ve büyüme uyarıcı faktörler gibi endojen ve eksojen bileşikler için taşıyıcı proteinler olarak hareket ettiklerini akla getirmektedir (10).

TPA (Tissue Polipeptid Antijen), sitokeratin 8, 18 ve 19'ü ihtiva eden kompleks bir moleküldür. Bu sitokeratinler karsinomlarda en fazla bulunanları

olup kandaki seviyelerinin tayini teşhise yardımcı olur. TPA'nın benign tümörlerde fazla değişmediği dolayısı ile malign tümörler için spesifik olduğu da kaydedilmiştir (11).

$\beta$ 2- mikroglobulin, küçük molekül ağırlıklı bir protein olup bütün çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunur. Özellikle lenfositler ve tümör hücreleri tarafından kana verilir. Renal yetmezlik, inflamasyon ve özellikle B-lenfositleri ile ilgili neoplazmalarda kandaki seviyesi yüksektir (12).

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, 21-59 yaşları arasında 35 (11 K, 24 E) sağlıklı kişi ile 17-87 yaşları arasında 62 kanser vakasında (24 K, 38 E) serum glutatyon -S-transferaz izoenzimleri olan GST- $\Pi$ , GST- $\alpha$  ile  $\beta$ 2-mikroglobulin ve doku polipeptid antijeni (TPA) seviyeleri araştırıldı. GST- $\mu$  kanser vakalarının 42 tanesinde bakıldı.

Kanser vakalarından 43'ünde GİS (14 mide, 12 karaciğer, 15 kolorektal, 2 pankreas), 6'sında prostat, 7'sinde mesane, 6'sında akciğer kanseri vardı.

Hastalardan ve kontrol vakalarından tedaviye başlanmadan önce sabah saat 8.00'de aç karna 10 cc. venöz tam kan alındı. Bütün parametreler ticari kitlerle çalışıldı.

TPA ve  $\beta$ 2-mikroglobulin kitleri Byk-Sangtec, İsveç firmasından, GST- $\alpha$  ve GST- $\mu$  kitleri Biöterin International, İrlanda firmasından, GST- $\Pi$  kiti immüno-diagnostik Grub H, ALmanya firmasından temin edildiler.

Kitlerden GST- $\alpha$  ve GST- $\mu$  kitleri ELISA, TPA ve  $\beta$ 2-mikroglobulin kemiluminesans (LIA) ve GST- $\Pi$  RIA prensibine dayanıyordu.

Bütün bu çalışmalar, S.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında mevcut cihazlarla gerçekleştirildi.

## BULGULAR

Bulgularımız tablo-1'de toplu halde verilmiştir. Tablodan görüldüğü gibi kanser vakalarına aid TPA,  $\beta$ 2-mikroglobulin ve GST- $\Pi$  düzeyleri kontrollere göre önemli oranda yüksek bulunurken diğer parametreler arasında istatistiki açıdan önemli bir fark

Tablo 1. Kanser vakaları ile kontrol vakalarına aid bulguların karşılaştırılması.

Parametre	Grup	N	X±SD	t	p
GST- $\Pi$ (ng/ml)	Kontrol	35	22.1 ± 10.8	2.6	p<0.025
	Hasta	62	28.4 ± 13.3		
GST- $\alpha$ (ng/ml)	Kontrol	35	4.57 ± 3.2	0.08	p>0.05
	Hasta	62	4.74 ± 3.95		
$\beta 2$ -Mikro- globulin ( $\mu$ g/ml)	Kontrol	35	2.55 ± 0.66	7.25	p<0.001
	Hasta	62	3.74 ± 1.68		
TPA (U/L)	Kontrol	35	74.1 ± 34.6	24.1	p<0.001
	Hasta	62	356.3 ± 59.4		

bulunamamıştır. Yine kanserli hastalarda GST- $\mu$  için pozitiflik oranı %60 olarak bulunmuştur ki bu oran normal populasyon için verilen orandan farklı değildir (Tablo 2). Normallerde bu oran %55-60 arasındadır. Yine, TPA düzeyindeki görülen artışın oldukça yüksek olduğu ve bazı vakalarda normalin birkaç misli arttığı görülmektedir.

## TARTIŞMA

GST izoenzimlerinden GST- $\Pi$ 'nin önemli bir kanser markırı olduğu GST- $\mu$  yokluğunun ise hastalığa yakalanma riski açısından önemli olduğu kaydedilmiştir (13, 14, 15, 16, 17). Yani GST- $\mu$ 'de pozitiflik oranı azaldıkça kansere yakalanma riski artmaktadır. Ancak bizim çalışmalarımızda bu pozitiflik oranı sağlıklı kişilerden farklı bulunmamıştır. Çalışmamızda pozitiflik oranı %60 bulunmuştur. Aynı oran sağlıklı kişilerde %55-60 arasındadır. Literatürde çeşitli kanserleri içine alacak şekilde ya-

pılmış bu tarz bir çalışmaya rastlayamadık. Ancak GST- $\mu$  yokluğunun özellikle akciğer kanserlerine yakalanma bakımından önemli bir risk faktörü olduğu kaydedilmiştir (14, 17, 18).

Çalışmamızda kanser vakalarına aid GST- $\alpha$  seviyeleri de kontrollere göre farklı bulunmazken GST- $\Pi$  hem GİS kanserlerinde hem de total kanser vakalarında kontrollere göre önemli oranda yüksek bulunmuştur. Araştırmacıların çoğu kanserli dokularda özellikle GST- $\Pi$ 'nin doku içi seviyesinin arttığını bulmuşlardır (19, 20, 21, 22, 23). Serum GST- $\Pi$  seviyesi hakkındaki çalışmalar ise azdır. Nitsu ve ark. (22) GİS kanserlerinde serum GST- $\Pi$  düzeylerinin önemli teşhis kriteri olduğunu bulmuşlardır. Howie ve ark (23) da akciğer kanserli hastalarda plazma GST- $\Pi$  düzeylerinin normallere göre önemli oranda arttığını bulmuşlardır. Bu bulgular bizim bulgularımızla uyum halindedir.

Tablo 2. Kanser hastalarında GST- $\mu$  izoenziminin pozitiflik derecesi

Vaka	n	Pozitif	Negatif	% Pozitif	% Negatif
Kanser	42	25	17	% 59.52	% 40.48

GST- $\alpha$ , daha çok bir karaciğer fonksiyon testi olarak kullanılmaktadır (24). Diğer kanserlerde arttığına dair herhangi bir çalışmaya rastlayamadık.

TPA'nın plazma ve idrar düzeyinin çeşitli kanserlerde arttığı ve iyi bir tümör markırı olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (25, 26, 27, 28, 29, 30). Bu bulgular bizim bulgularımızı destekler mahiyettedir. Çalıştığımız parametrelerden en iyi kanser markırının TPA olduğu da görülmektedir. Ancak

TPA spesifik bir markır değildir. Çalışmamızda, kanserli vakalara aid  $\beta$ 2-mikroglobulin düzeyleri de kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Bu yükseklik istatistiki açıdan önemli olmakla beraber aradaki fark TPA'daki kadar belirgin değildir. Sonuç olarak kanserin teşhisi açısından çalıştığımız parametrelerden TPA'nın en iyi kriter olduğu ve bu parametrelerin birlikte tayinlerinin kanserin teşhisini kolaylaştıracağı kanaatine varıldı.

## KAYNAKLAR

1. Rodwell VW. General Properties of Enzymes. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, eds. Harper's Biochemistry. Prentice-Hall International Inc., 1985; 52-64.
2. Simons PC, DAvid LVJ. Purification of glutathione -S- transferases from human liver by glutathione-affinity chromatography. Analytical Biochemistry 1977; 82: 334-41.
3. Eimoto H, Masahiro T, Akira N, Kazuhiko Y, Yoshiharo T, Hiroshi M, et al. Expression of the glutathione -S- transferase placental form in human lung carcinomas. Carcinogenesis 1988; 9: 2325-7.
4. Hayes PC, Bernard P, Peter MA, Roger W, John DH. Glutathione S-transferases and human pathology. In: Hayes JD, Mantle TJ, Pickett CB, eds. Glutathione S-transferases and carcinogenesis. London: Taylor and Francis, 1987: 175-87.
5. Sato K, Kimihiko S, Shigeki T, Ichiro H, Katsuto T, Hongxi S. Glutathione S-transferases and (pre)neoplasia. Adv Cancer Res 1989; 62: 105-55.
6. Van Ommen B, Jan JPB, Wilbert HMP, Bas B and Peter JVB. Quantification of human hepatic glutathione S-transferases. Biochem J 1990; 269: 609-13.
7. Pickett CB. Glutathione S-Transferases: Gene structure, regulation and biological function. Ann Rev Biochem 1989; 58: 743-64.
8. Hayes JD, David J, Brian JC, Geoffrey. Purification of human hepatic glutathione S-transferases and the development a radioimmunoassay for their measurement in plasma. Clin Chim Acta 1983; 134: 107-21.
9. Habig WH, Michael JP and William J. Glutathione S-Transferases. J Biol Chem 1974; 249: 7130-9.
10. Sato K, Kimihiko S, Ichiro H, Shigeki T, Yasushi S, Yuhko S, et al. Placental glutathione S-transferases as a marker for (pre)neoplastic tissues. In: Hayes JD, Mantle TJ, Pickett CB, eds. Glutathione S-transferases and carcinogenesis. London: Taylor and Francis, 1987: 127-37.
11. Chan DW, Sell S. Tumor Markers. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994: 897-927.
12. Silverman LM, Christenson RH. Amino Acids and Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994: 625-734.
13. Pickett CR. Glutathione-S-transferases: gene structure, regulation and biological function. Ann Rev Biochem 1989; 58: 743-64.
14. Tokuhata GK. Familial factors in human lung cancer and smoking. Am J Public Health 1964; 54: 24-32.
15. Seidegard J.A. glutathione transferase in human leukocytes as a marker for the susceptibility to lung cancer: Carcinogenesis 1986; 7: 751-3.
16. Seidegard J. Isoenzyme of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow up study. Carcinogenesis 1990; 11: 33-6.
17. Van Poppel G. increased cytogenetic damage in smokers deficient in glutathione -S- transferase isozyme  $\mu$ . Carcinogenesis 1992; 13: 303-5.
18. Gelboin HV. Carcinogens, drugs and cytochrome P-350. New England J Med 1983; 309: 105-7.
19. Kodate C, Fukushi A, Narita T, Kudo H, Soma Y, Sato K. Human placental form of glutathione -S- transferase (GST $\pi$ ) as a new immunohistochemical marker for human colonic carcinoma. Jpn J Cancer Res 1986; 77: 226-9.
20. Satoh K, Soma Y, Sato K. Purification and subunit-structural and immunological characterization of five glutathione -S- transferases in human liver, and the acidic forms as a hepatic tumor marker. Biochem et Biophysica Acta 1986; 869: 247-58.

21. Ili<sup>•</sup> CD, Boccio GD, Aceto A, Federici G. Alteration of glutathione -S- transferase isoenzyme concentrations in human renal coreinoma. *Carcinogenesis* 1987; 8: 861-4.
22. Nitsu Y, Takahashi Y, Saito T, Hirat Y, Arisato N, Maruyam H, et al. Serum glutathione -S- transferase  $\pi$  as a tumor marker for gastrointestinal malignancies. *Cancer* 1989; 63: 317-23.
23. Howie AF, Doughas JG, Fergusson RJ, Beckett GJ. Measurement of glutathione -S- transferase Pi isoenzyme in plasma, a possible marker for adenocarcinoma of the lung. *Clin Chem* 1990; 36: 453-6.
24. Beckett GJ, Amondo JH, Ian L, Farbes H, Richard CS, Charles GF et al. Measurement of glutathione -S- transferase B1 in plasma after birth asphyxia: An early indication of hepatocellular damage. *Clin Chem* 1989; 35: 995-9.
25. Fisher LN, Carbin BE, Backlander M, Lannskog AC, Sundström BE. TPA in urine from patients with bladder cancer and controls. Presentations on TPA at the 10th IATMO International Conference On Human Tumour Markes. Bonn., Germany, September 8-11, 1993.
26. Schweiger R, Maenner G, El-Din AMG- Halim A, El-Ahmady O, Oehr P, Pohl AL. Neural network processing of tumor marker data for diagnosis of urinary bladder cancer. Presentations on TPA at the 10th IATMO International Conference On Human Tumour Markes. Bonn, German, September 8-11, 1993.
27. Gion M, Mione R, Pappagallo GL, Gatti C, Nascimben O, Bari M, Et al. Cytosol TPA-A prognostic factor in primary breast cancer. Presentations on TPA at the 10th IATMO International Conference On Human Tumour Markes. Bonn, German, September 8-11, 1993.
28. Rapellino M, Pecchio F, Coni F, Ruffini E, Cellerino A. Clinical efficacy of TPA determination in the management of lung cancer patients. Presentations on TPA at the 10th IATMO International Conference On Human Tumour Markes. Bonn, Germany, September 8-11, 1993.
29. Lindmark G, Pahiman L, Bergström R, Glimelius B. The prognostic value of preoperative serum tumor markers in colorectal cancer. Presentations on TPA at the 10th IATMO International Conference On Human Tumour Markes. Bonn, Germany, September 8-11, 1993.
30. Safi F. Determination of TPA in gastrointestinal cancer patients. Presentations on TPA at the 10th IATMO International Conference On Human Tumour Markes. Bonn, German, September 8-11, 1993.