

**Akciğer Kanserlerinde Serum Alkalin
Fosfataz, Sialik Asit Seruloplazmin Düzeyleri
ve Tanıdaki Önemleri**

(DOKTORA TEZİ)

Arş. Gör. Leylâ ÇOLPAN

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. Belkıs AYDINOL

SUNUŞ

Bu araştırma Dicle Üniversitesi Tıp Fakóltesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalında, Doç.Dr.Belkıs AYDINOL yönetiminde Arş.Gör.Leyla ÇOLPAN tarafından yapılmış ve Doktora Tezi olarak sunulmuştur.

Ocak, 1992

ÖNSÖZ

Yetişmemde büyük katkıları olan,engin tecrübe ve bilgisinden yararlanma olanağı bulduğum değerli Hocam Merhum Prof.Dr.Güneri ERDEM'i rahmetle anmayı bir borç bilirim.Çalışmalarımda gerek konu,gerekse yöntem tesbitinde bana yol gösteren ve tezimin hazırlanmasında her türlü yardımlarını gördüğüm Hocam Sayın Doç.Dr.Belkıs AYDINOL'a, yine yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr.Turhan ÜZDEN'e ve çalışmalarım süresince sürekli destek gördüğüm Göğüs Hastalıkları Kliniği Öğretim üyelerinden Sayın Yrd.Doc.Dr.Recep IŞIK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Saygılarımla,

Leyla ÇOLPAN

Diyarbakır,1992

İÇİNDEKİLER

SAYFA

I- GİRİŞ ve AMAÇ	1
II- GENEL BİLGİLER	4
Akciğerlerin anatomik ve histolojik yapısı ..	4
Akciğer kanserleri	7
Alkalin fosfataz (ALP)	10
Sialik asit (S.A)	30
Serüloplazmin (SP)	39
III- MATERYAL ve METOD	45
IV- BULGULAR	51
V- SONUÇLAR	59
VI- TARTIŞMA	61
VII- ÖZET	76
VIII- KAYNAKLAR	80

GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, insanlarda en sık görülen ve en çok ölüme neden olan bir kanser tipidir. Son 30-40 yıl içerisinde kaydettiği hızlı artıştan dolayı primer akciğer kanseri günümüzün çok önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir. Bir asır evvel, son derece nadir görüldüğü bildirilen bu hastalık bu müddet içerisinde 10-15 misli artmış bulunmaktadır. Bu artışın nedenleri arasında kanser tanısı koymak için geliştirilen araçların mükemmelleşmesi ve ortalama ömrün artması düşünülebilir. Eger bu düşünüş doğru olsa idi diğer organ kanserlerinde de aynı olması gerekirdi. Halbuki 40 sene evveline göre böbrek ve pankreas kanserleri hafif artmış, özofagus ve prostat kanserleri aynı kalmış ve K.C (Karaciğer) kanserleri ise azalmıştır. Ayrıca otopsi istatistikleri A.C (Akciğer) kanserleri için onar senelik zaman içerisinde bile net bir artışın bulunduğunu göstermektedir (93).

Akciğer kanseri bugün, bütün diğer kanser grupları arasında birinci sırayı tutmaktadır. Bu artış Amerika ve Avrupa ülkelerinde görüldüğü gibi, ülkemizde de gözlenmektedir (98).

Akciğer kanseri insidansının artmasında değişik çevre koşullarının etkisi vardır. Ancak bunlar arasında sigara en önemli yeri almaktadır. Bu konuda yoğun yayınlar vardır ve bu yayınlar sigara ve akciğer kanseri ilişkilerini desteklemektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda

endüstriyel bölgelerde akciğer kanser riskinin daha fazla olduğu ortaya konmuştur (30).

Akciğer kanserlerinin ana problemi erken teşhistir. Herhangi bir nedenle çekilen filmlerde solunum sisteminden şikayeti olmayan şahıslarda tesadüfi olarak kanser ortaya çıkabilmektedir. Yani akciğer kanserinin klinik olarak kendini belli etmesi uzun bir zaman alabilir.

Alkalen fosfataz (ALP) zaman zaman kanserli dokularda ortaya çıkmakta, kanserlerde serumdaki ALP aktivitesinde artışlar gözlenmektedir. Bu tip ALP'lar mevcut ALP'ların modifiye formları olabileceği ileri sürülmüştür. Bu modifikasyonlardan en önemlisi ALP'lara ekstra sialik asit artışlarının girmiş olmasıdır. Muhtemelen bu durum kanserli hücrelerde sialil transferaz artışı ile ilgilidir (6).

Sialil transferazlar; Glikolipid ve Glikoproteinlerin sentezi esnasında oligosakkarit zincirlerine sialik asit transfer ederler. Malign hadiselerde bir glikoprotein olan ALP enzimine de sialik asit artıkları ilave edilerek enzim aktivitesi değişebilmektedir. Metastatik tümörlerin bizzat kendilerinin serum sialil transferaz enzimini artırdıklarına dair bilgiler vardır (71).

Serüloplazmin de insan serumunda bulunan %2.4 sialik asit bulunduran bir glikoproteindir. İnsan serumundaki bakırın % 95'i serüloplazmindedir. Malign hadiselerde serüloplazminin arttığı gözlenmiştir (54).

Görüldüğü gibi hem ALP'in hem de serüloplazminin yapılarında bir miktar sialik asit artıkları bulunmaktadır.

Bu bilgilerin ışığında çalışmamızın amacı; yapılarında sialik asit bulunduran ALP, serüloplazmin ve total sialik asitin, akciğer kanserinde incelenmesi ve bu parametrelerin akciğer kanserli hastalarda tanıya yardımcı testler olarak kullanılıp kullanılamıyacağını ortaya çıkarmaktır.



GENEL BİLGİLER

Akciğerler, göğüs boşluğunda birbirinden mediastinum ile ayrılmış sağ ve sol bir çift organdır. Bunlar içerisinde hava ile kan arasında gaz değişimi olur. Venöz kan, arteriyel kana dönüşür. İnsanda her bir akciğer yaklaşık 600 gr. kadardır. Sağ akciğerler genelde biraz daha ağırdır. Akciğerler sağda iki derin yarıkla üç loba, solda tek yarıkla iki loba ayrılmıştır. Akciğerlerin yüzeyi bir seröz membran olan visseral plevra ile örtülüdür. Visseral plevra interlober yarıklar içine girerek interlober yüzeyleride örter.

Sağ akciğerde 10, sol akciğerde 8 esas bronkopulmoner segment ayrıtılır. Segmental bronşlar çapları gittikçe küçülerek bir çok kez dallanırlar. Çapları 1 mm'den az, duvarları kıkırdaktan yoksun olunca bronşiyol olarak tanımlanırlar. Bronşiyollerin duvarında kıkırdak ve bez bulunmaz. Epitel tek katlı prizmatik titrek tüylüdür. Bronşiyoller dallanıp incelmeyi sürdürürler. Solunum sisteminin gaz değişimi yapmaksızın sadece iletme yarayan, en küçük çaplı son dallarına terminal bronşiyoller denir. Terminal bronşiyollerden itibaren epitel tek katlı alçak prizmatik veya kübik olmaya başlar. Epitelin apikal yüzünde henüz titrek tüyler görülebilir. Fakat yer yer siliyasız epitel hücrelerine rastlanır (48).

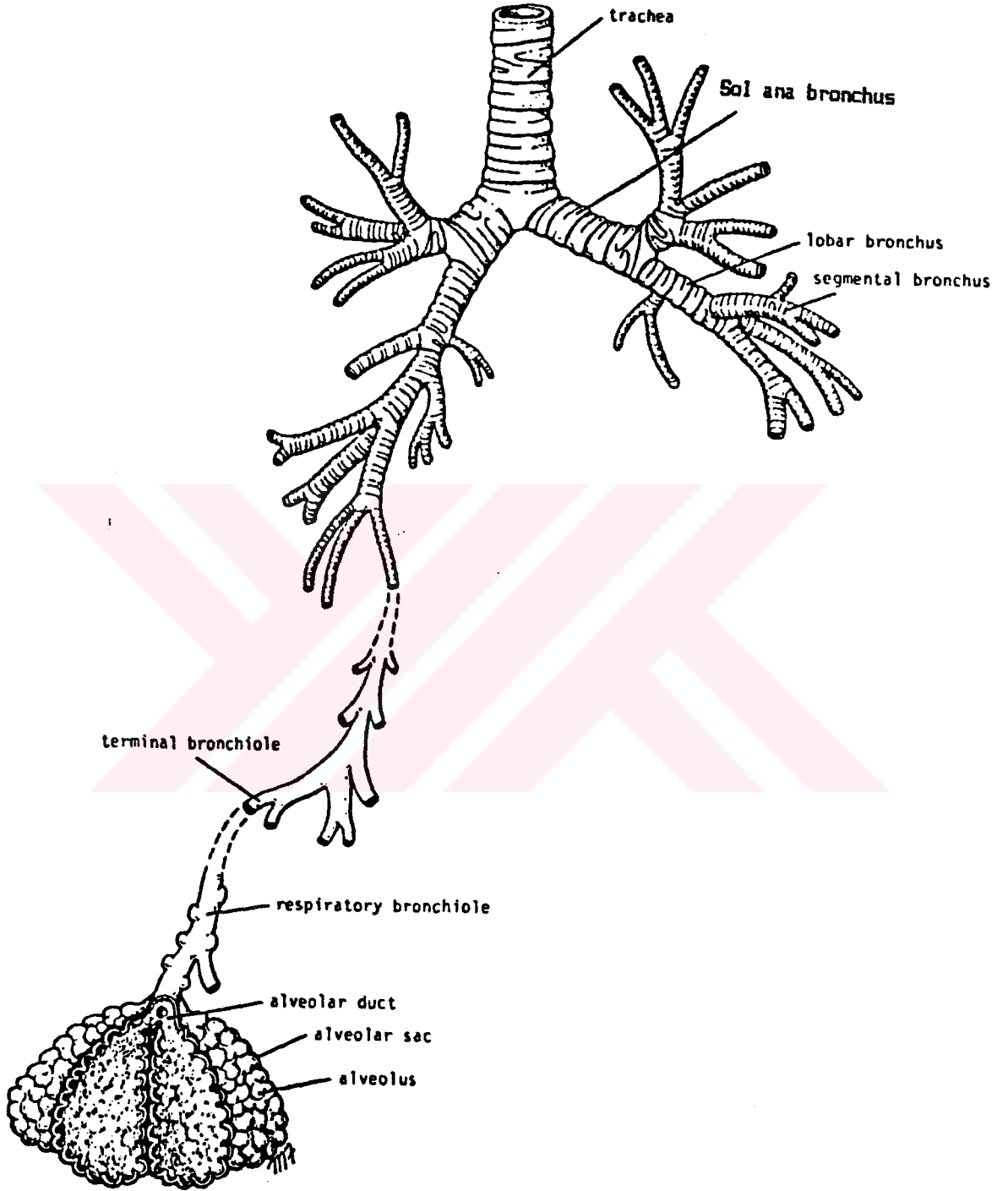
Bundan sonra dallar gittikçe daha fazla gaz değişimi ile ilgilidir. Böylece her terminal bronşiyol kısa, ince

duvarlı bir,iki veya daha çok sayıda dallarla devam eder. Bu sonuncu dallar,duvarlarında az sayıda tek tek serpilmiş alveolleri içerdikleri için respiratuar bronşiyoller adını alır. Respiratuar bronşiyolün duvarı,alveol içermeyen kısımlarında tek katlı kübik epitel ile döşelidir.Epitelin apikal yüzünde titrek tüyler başlangıçta bulunursa da kısa bir seyirden sonra kaybolurlar.Epitel siliyasız,alçak, kübik hücrelerden oluşur. Siliyasız hücreler salgı hücresi görünümündedir.Bunlara CLARA HÜCRELERİ denir.Epitel altındaki bağ dokusu içinde elastik lifler ve düz kas liflerinden yapılı birbirini içine geçen kalın demetler vardır. Fakat bunlar terminal bronşiyoldeki kadar belirgin bir mükölo-elastik tabaka yapmazlar. Duktus alveolarisler de bir kaç kez dallanır ve alveolar keselerde (sacculi alveolares) sonlanırlar. Duktus alveolarislerin duvarlarını, doğrudan doğruya tek tek alveoller ile 2-4 alveol içeren alveolar keseler oluşturur.Şu halde alveoller,duktus alveolarislere veya alveolar keselere açılan ince duvarlı,cep gibi kovuklardır(48).Hava ile kan arasındaki gaz değişimi alveollerde olur (Şekil 1).

Alveol epiteli,alveol yüzünde kesintisiz sürekli bir örtü yapar.iki tip hücreden meydana gelir.Bunlar;

a) Yassı, tip I alveolar hücreler (Küçük alveolar hücreler)

b) Yuvarlağımsı, tip II alveolar hücreler (Büyük alveolar hücreler veya Septal hücrelerdir)



Şekil 1: Akcigerler içinde bronşların dallanması (BO).

Tip I: Alveolar hücreler ileri derecede incedir. Yassı, koyu boyanan nukleusları endotel hücrelerinin nukleuslarına benzer. Burada geniş fakat çok ince stoplazmaları içinden hava ile kan arasında gaz değişimi olur.

Tip II: Alveolar hücreler, düzensiz yuvarlağımsı biçimde, Tip I yassı hücrelere göre daha uzundur. Bu yüzden lümene doğru kabarık dururlar. Tek tek veya bir kaç hücreli gruplar halinde yassı epitel içine serpilmiştir. İri yuvarlak nukleusları, belirgin nukleolus içerir. Stoplazmaları ışık mikroskobu ile vakuollü görünümündedir. Bunlar histokimyasal boyanmalara göre fosfolipitten zengindir (26).

PATOLOJİ VE SINIFLANDIRILMASI

Akciğer kanserlerinin makroskobik görünüşü ve yayılma niteliği değişiklikler gösterir. Bazıları bronş boşluğuna doğru ve bronş boyunca büyüyerek tıkaçıcı bir nitelik gösterir. Bazıları erkenden komşu duvarlara yayılır. Bazıları lokal niteliktedir. Burada tümör özellikle lenf yollarıyla yayılır (32).

Malign akciğer kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturan önemli kanser türleri şunlardır (32).

- 1- Yassı epitel hücreli karsinoma veya Epidermoid karsinoma (squamous cell carsinomas)
- 2- Küçük hücreli anaplastik karsinoma
- 3- Adenokarsinoma
- 4- Büyük hücreli karsinoma
- 5- Miks epidermoid ve adeno karsinoma

6- Mezotelyoma

7- Diğer bronş kanserleri

1- YASSI EPİTEL HÜCRELİ KARSİNOMA

Buna Epidermoid karsinoma, squamoz hücre karsinoma, planosellüler karsinoma adı da verilir. Tüm akciğer kanserlerinin % 42'sini kapsamaktadır. Erkeklerde kadınlara göre daha fazla görülür. Son senelerde artan bronş kanser tipidir. Sigara içenlerde ekseriya görülen kanser tipini yassı epitel karsinoma teşkil eder. Diğer Akciğer kanserlerine göre daha ziyade büyük bronşlardan menşeyini alır ve ileri yaşlarda görülür. Gelişmesi diğer tiplere göre daha yavaştır. Histolojik olarak yassı epitele benzer. Hücrelerin konsantrik şekilde dizilmesiyle meydana gelir (7).

2- KÜÇÜK HÜCRELİ ANAPLASTİK KARSİNOMA

İkinci derecede sık görülen tiptir (% 20-30). 1926 yılından sonra Barnar adlı araştırmacı bu tümörlerin gerçekte bronşların medulla kanseri olduğuna dikkati çekmiştir (35).

Mikrosellüler karsinoma adı da verilen bu tümör, Submukoza da lenf yolları ile ilerlediğinden, mukoza, yaygın bir şekilde şişmiş görülür. Hücreler küçük olup yoğun olarak bir arada bulunurlar. Sarkoma veya lenfomaya benzeyen bu küçük hücreler iğ (füzüform), çokgen (poligonal), yulaf (lenfosit benzeyen) v.b gibi şekillerdedir. Bu hücreler ilgili doku hücrelerinden ve birbirinden ayrılmaları güçtür. Sigara içilmesiyle yakın ilişkisi vardır (98).

3- ADENOKARSİNOMA

Bunların görülme sıklığı % 7-27 arasında değişir. Mukoza altında geliştiklerinden bu tümörün balgam, bronş lavajı, bronş fırçalaması ve bronş biyopsisi ile teşhisi başarılı olmaz. Adenokarsinomaların 3/4'ü akciğer periferinde bulunur. Bu tümörün küboid ve silindirik hücreleri glendüler bir görünüm oluşturur.

Adenokarsinoma kadın akciğer kanserleri arasında en çok görülenidir. Sigara ile ilişkisi yoktur. Sigara içen ve içmeyenlerde de görülür (98). Çok kere lokal belirtilerden evvel metastaz yaparlar.

4- BÜYÜK HÜCRELİ KARSİNOMA

Bunlar hiçbir tipe sokulamayan bronş kanseri tipidir. Oranları çok düşük % 1-3'dür.

Tümör hücreleri büyük olup ilgili doku hücrelerinden belirgin bir ayrılık göstermezler. Büyük hücreli tümörlerin hücre yapısı, öncelikle ikinci derece veya küçük bronşlarda oluşması, yayılım niteliği genellikle adenokarsinomaya benzer (93,98).

Son zamanlarda, elektron mikroskopuyla yapılan çalışmalar, dev hücreli kanserlerin bronşiyol ve alveol epitel hücrelerinden çıkmış olduklarını göstermiştir (35).

5- MİKS EPİDERMOİD VE ADENOKARSİNOM

Yaklaşık bronş kanserlerinin % 6'sında görülür. Epidermoid ve adenokarsinomanın karakterini birlikte bulunduran tümör tipidir. Bunlara "Müko epidermoid tümör"de

denir. Epidermoid hücreler arasında müsin ifraz eden hücrelerden yapılmış halkalar bulunur.

Bazı araştırmacılar bu miks tipin mevcudiyetini kabul etmemektedir. Onlara göre, tümörün muhtelif bölgelerde değişik tipleri bulunabilir. Hangisi hakim ise onun tipi bahis konusudur.

6- MESOTELYOMA

Akciğer zarı kanserleridir. Büyük oranda asbest partiküllerinin bulunduğu havayı soluyanlarda yıllar sonra görülür. Özellikle endüstriyel bölgelerde asbest kullanımı ile yaklaşık 20-30 yıl sonra mesotelyoma ortaya çıkabilir (41).

ALKALEN FOSFATAZ (ALP)

ALP, alkali ortamlarda fosfo monoesterleri hidroliz edip fosfor açığa çıkararak, kendilerine tekabül eden alkol, fenol veya şekerlere çevirimini kataliz eden bir grup enzimlerdir (E.C. 3.1.3.1, orto fosforik asit monoester fosfo hidrolaz) (1,10,34,36,55).

ALP'lar ilk defa 1885 yılında Tamman tarafından farkedilmesine rağmen ancak 1907 yılında Suziki, Yoshimura ve Takaishi tarafından tekrar ele alınarak geniş çapta incelenmiştir (34).

İlk olarak 1923'te Robison, kemikte kalsifikasyon olayında ALP'in direk etkisinin olduğu hipotezinin gelişmesine yol açmıştır (34). 1923 yılında Bodansky, kemik dışı ALP'ların var olabileceğini ilk olarak ortaya atmıştır (11, 34,39). Daha sonra karaciğer ve dalakta pH=5'te optimum

aktivite gösteren ilave enzimler olduğu gözlenmiş, Davies tarafından alkali ve asit terimlerinin kullanılması başlatılmıştır.1941'de Gomori,barsakta epitel hücrelerinin yüzeyinde pozitif bir ALP aktivitesi gözlemiştir,1934 yılında Coryn gebelik esnasında serum ALP'nın arttığını bulmuş, 1950 yılında Jung ve arkadaşları bu artışın plasentadan gelen bir izoenzime bağlı olduğunu iddia etmişlerdir. Memeli hayvanların lökositlerinde ALP enziminin varlığı, ilk olarak Roche tarafından ortaya çıkarılmış ve lökosit ALP düzeyinin %85' inin stoplazmik granüllerde yer aldığı gözlenmiştir (34).

Serumda ALP'nın varlığı ilk kez 1924 yılında gözlenmiştir (34). 1954 yılında ise ilk kez serum ALP'nın birden çok değişik formlarda olabileceği kağıt elektroforesinde iki bantın gözlenmesiyle ortaya çıkmıştır (34).Bu türler en sık karaciğer ve kemik kökenli olan izoenzimlerdir (99).

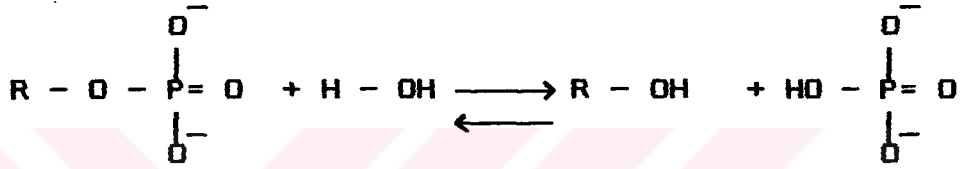
1968'de Fishman ise serum ALP seviyesi çok yüksek olan bir bronkojenik kanserli hastanın tümöral dokusunun, ALP ihtiva ettiğini görmüş ve serumdaki enzimin bu dokudan dolaşıma geçtiğini gözlemiştir. Buna ilk bulunan vakanın adına izafeten Regan izoenzimi adı verilmiştir (34,43, 86,95).

Aynı yıllarda yine serum ALP'ı yüksek olan bir şahısta tümörün ALP ihtiva ettiği fakat bu izoenzimin Regan izoenziminin aksine ısıya hassas ve fenil alanine hassas olmayan bir izoenzim Timperley tarafından gözlenmiştir(86).

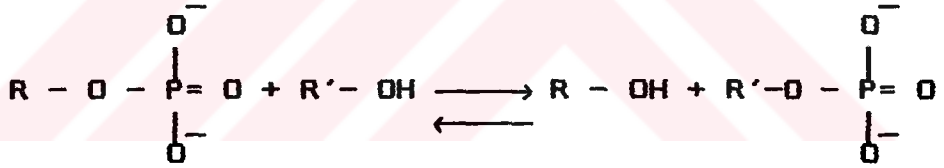
ALP'ların dokulardaki yayılışı homojen değildir. Kay,adrenal korteksin medulladan daha fazla enzim ihtiva ettiğini göstermiştir.Ince barsak kanalı boyunca da aktivitenin değiştiği gözlenmiştir (34).

Değişik kaynaklardan elde edilen ALP'lar 3 tip aktivite göstermektedir.

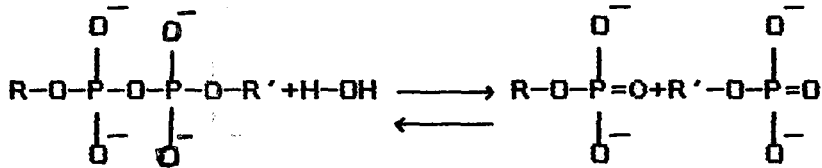
a- Hidrolitik



b- Fosfotransferaz



c- Pirofosfataz



ALP memelilerde çok bulunmasının yanısıra,bakteride ve mantarlarda da olduğu gözlenmiştir.Memelilerde genel olarak besinlerin transportu ile ilgili dokularda yaygın dır.Yine sekresyon yapan dokular ile gelişmekte olan dokularda sıktır.Kasta hemen hemen hiç yoktur.Eritrositlerde

bulunmaz.En fazla karaciğer,safra kanalikülünü sınırlayan membranlarda,kemikte osteosit ve osteoblastlarda bulunur. ALP primer olarak hücrelerin absortif veya sekresyon yapan yüzeylerinde yerleşmiştir.Renal proksimal tubülün fırçamsı kenarında,ince barsak mikrovililerinde,lökositlerde oldukça fazla bulunmaktadır.

Böbrek ve ince barsak ALP'ları membran enzimidir. Fakat kemiğinki bir metabolizma enzimidir (99).

Sentezi ve Yapısı

ALP'ın sentezi en iyi şekilde E.coli'de anlaşılmıştır (34). Bakterilerde mevcut olan çok zincirli proteinlerinden en basitlerinden biri olan ALP, M.A. 40.000'er olan iki ayrı monomerden meydana gelmiş bir dimerdir.

Bu enzimin öncül şekli, E.coli'de bir sinyal peptid ile birlikte düz bir zincir halinde sentezlenir,sonra dimerik şekline geçeceği periplazmik alana taşınır.Burada sinyal peptid uzaklaştırılır (55).Önce düz zincir halindeki proteinler,kendi içerisinde disülfür köprüleri teşkiliiyle kıvrılıp katlanarak monomerleri meydana getirirler. Bu monomerler buradan hücre membranı ile hücre duvarı arasındaki periplazmik alana yerleşir,burada non-kovalent bağla birbirlerine bağlanarak dimerik yapıda enzim moleküllerini meydana getirirler. Daha sonra dimer başına 4 atom çinko enzim moleküllerine katılmaktadır.Fakat enzim aktivitesi için 2 atom çinko yeterli olmaktadır.

Eukaryotiklerde,E.coli'den farklı olarak stoplazmik membrana yerleşirler. Son zamanlarda plasental enzimin membrana Asp 484 pozisyonunda karboksil terminal ucundan fosfatidil inositol-glikan yapışma mekanizması yolu ile yerleştiği gösterilmiştir (55,57). Diğerlerinin de benzer yolla yerleştikleri sanılmaktadır.

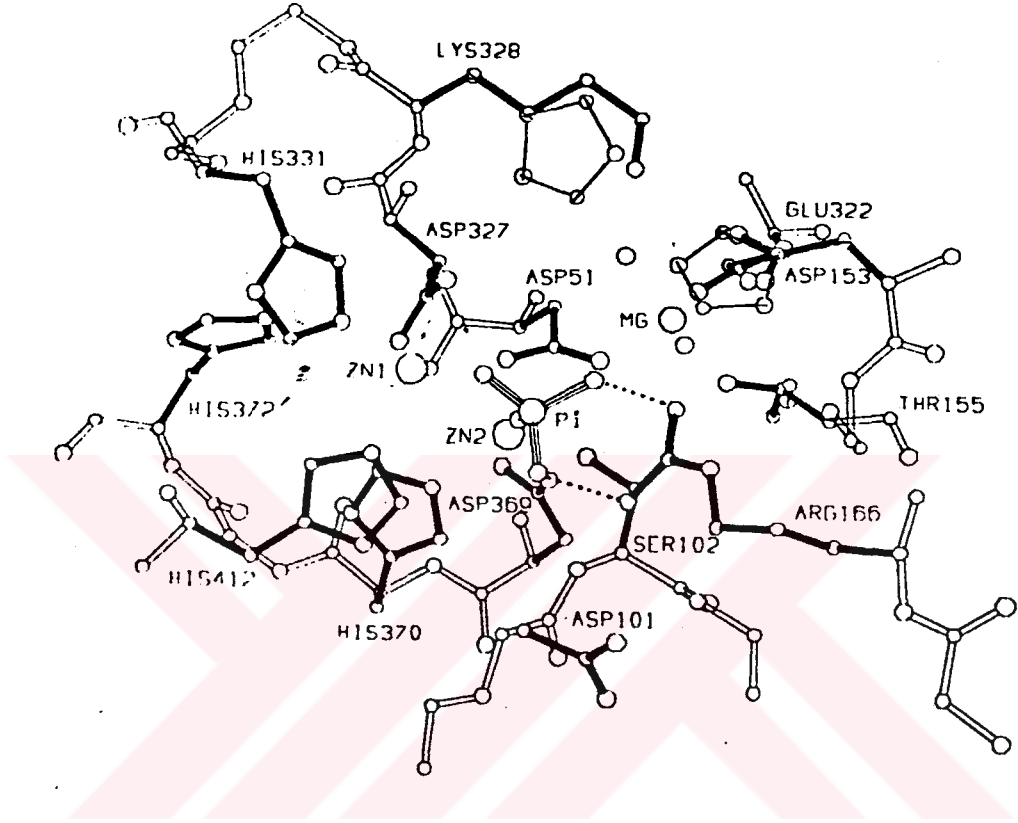
ALP'lar yapılarında sialik asit ihtiva ederler.Sialik asitten dolayı negatif yük taşırlar ve bu özelliklerinden dolayı iyon değiştirme kromatografisi ile ayrıştırılabilirler (34).

Safılaştırılmış insan plasental ALP'nın yapısında fukoz,mannoz,galaktoz ve 7 sialik asit artığı bulunmuştur. Barsak ALP'ı hariç kemik,karaciger ve böbrek ALP'ları da sialik asit ihtiva ederler. Barsak ALP'ı ise karbonhidrat eki olarak heksozamin bulundurmaktadır.Sialik asit nöraminidaz etkisiyle uzaklaştırılabilir.Bu uzaklaştırma elektroforetik göçü değiştirir.Fakat enzimatik aktiviteyi bozmaz.Enzimatik aktivite için çinko gereklidir.

Memeli enzimleri içerdikleri karbonhidrat ve fosfatidil inositol nedeniyle daha büyüktür.Molekülün aktif bölgesi gayet iyi bir şekilde korunmuş,ancak fosfat ve magnezyum metaline bağlanan bağlarda spesifik değişiklikler gözlenmiştir (55).

E.coli ALP'ın aktif bölgesi Asp-101,Ser-102,Ala-103 ve 2 Zn, 1 Mg'dan oluşan metal üçlüsünden oluşur.Safılaştırma işlemi esnasında bu bölgede fosfat ve su molekülleri saptanır.

Mg'un tam olarak katalizdeki rolü bilinmesede,enzimin aktif bölgesindeki yapısı,güçlü bir şekilde korunmaktadır.Bu da bu bölgenin önemini vurgular (55) (Şekil 2).



Şekil 2: E.Coli'de Alkale Fosfatazın Aktif Yeri (55).

Memeli enzimleri optimal pH ve substrat saturasyonunun sağlandığı durumlarda E.coli enziminden 20-30 kat daha aktiftir.

Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Mn⁺⁺ gibi iyonlar ALP enziminin aktivatörleridir ve Zn⁺⁺ yapısal bir metal iyonudur (34,102).

Mg⁺⁺ / Zn⁺⁺ oranının optimum aktivite için doğru tesbit edilmesi gerekir (11).

Fosfat,borat,oxalat ve siyanür iyonları enzimin bütün formlarını inhibe ederler (4,8,62,84,99,102).

ALP izoenzimleri

Glikoprotein yapısında olan ALP'ların,değişik dokuların değişik yerlerinde bir çok karakteristik farklılıklar gösteren izoenzimleri vardır.Bu farklılıkların sebepleri yoğun olarak araştırılmaktadır.

Farklı kaynaklardan elde edilen ALP'ların birbirinden bir çok biyokimyasal ve immünolojik metodlarla ayrıldıkları son 50 yıldır bilinmektedir.Dokuya spesifik bu farklılıkların tabiatı ve orjini tam olarak anlaşılmamıştır.

Izoenzim kelimesi ilk olarak memelilerin LDH enziminin 5 varyantı için kullanılmıştır.

ALP'ın da birden çok değişik formlarda olabileceği ilk olarak kağıt elektroforezinde 2 bandın gözlenmesiyle ortaya çıkmıştır.Serum ALP'ın ve değişik dokulardan elde edilen doku homojenatlarının nişasta jeldeki elektroforezleri sonucunda ise ALP enziminin bir tek doku içerisinde bile değişiklikler arzettiği ortaya çıkarılmıştır (34).

Izoenzim oluşumundaki sebepler; Nonprotein materyaller,polimerizasyon,konformasyon değişiklikleri ve değişik aminoasit dizilerinin neticesi ile oluşan genetik farklılıklardır.

ALP izoenzimlerinin ayırımında,onların değişik substratlarla olan reaksiyon hızlarından,ısı veya üre denatürasyonuna karşı stabilitelerinden,seçilmiş inhibitörlere karşı farklılıklarından, elektroforetik mobilite ve immünokimyasal karakter farklılıklarından kaynaklanan

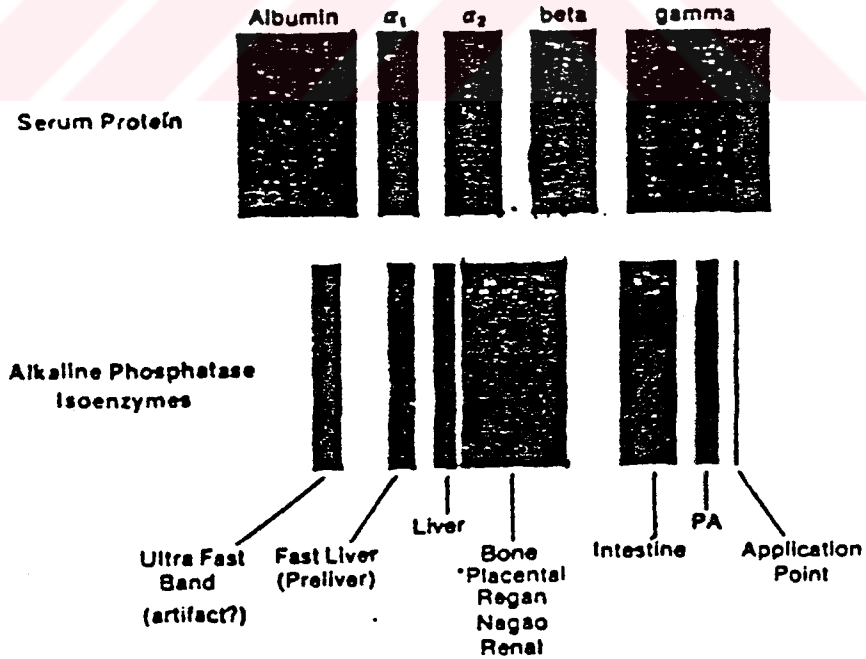
kriterler kullanılmaktadır.

Tam ayrımın yapılabilmesi için birden fazla teknige gerek duyulmaktadır.

Serum numuneleri, farklı ALP izoenzimi ihtiva ediyorsa alkali pH'da elektroforetik olarak ayrılırlar.Çeşitli elektroforetik teknikler ALP izoenzimlerini ayırmada kullanılmaktadır.

Keinding's ve bazı diğer araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda insan serumunda selüloz asetat elektroforezinde albumin pozisyonunda albumin-bilirubin kompleksinin oluşturduğu ultra-fast band olarak adlandırılan band haricinde bir çok band daha göstermişlerdir (11,29,45).

Bunlar; Fast liver (pre-liver), karaciğer,kemik, plasenta,Regan,Nagao,böbrek,barsak ve PA izoenzimleridir (11,29,38,62) (Şekil 3).



Şekil 3:Selüloz Asetat Elektroforezinde Görülebilen ALP izoenzim Tipleri (11).

Bu izoenzimler ısı ve bazı kimyasal maddeler karşısında gösterdikleri özellikleri bakımından birbirlerinden ayrılırlar (11,81) (Tablo 1).

ULTRA FAST BAND

Albumin pozisyonunda, albuminle bilirübinin meydana getirdiği komplekstir.

Hordin ve arkadaşları (38), yaptıkları çalışmada 1200 olgunun 27'sinde bu bandı görmüşler. Bandın görüldüğü olguların % 26'sında bilirübinin ≥ 10 mg/dl üzerinde olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Bu bandın özelliği 55°C ve 65°C 'de kaybolmaması ve daha koyu mavi boyanmasıdır (11,38).

FAST LIVER (Pre-Liver)

Selüloz asetat elektroforezinde karaciğer bandından önce yer alan bir band vardır. Bu band nişasta ve akrilamit jel de ya çok yavaş veya hiç hareket etmez. Bu özelliği ve karaciğer hastalıklarında görülmesinden dolayı fast liver veya alfa-liver fraksiyon olarak adlandırılır (94,95).

İlk defa Fritsche ve Adams Park tarafından karakterize edilmiştir. Fast liver fraksiyonunun orjini tam olarak açık değildir ve muhtemelen yalnız bir üniteden oluşmamıştır.

Fast liver fraksiyonu lipoprotein ile makromoleküller kompleks yapmış, normal karaciğer fraksiyonu gibi görünmektedir. Gerçekten de bazı maddelerle inhibisyona uğrama özellikleri, alfa-2 globulinde görülen normal karaciğer fraksiyonu ile aynıdır (Tablo 1).

Tablo 1: ALP İZDENZİMLERİNİN ISI VE KİMYASAL İNAKTİVATÖRLER KARŞISINDA GÖSTERDİKLERİ ÖZELLİKLER (11).

	56°C-10' ISI İLE İNAKTİVASYON	URE İLE İNHİBİSYON	FENİLALANİN İLE İNHİBİSYON	L-LEUCİNE İLE İNHİBİSYON	HOMODARJİNİN İLE İNHİBİSYON	NEURAMİNİDASE İLE İNHİBİSYON
Alfa-1	FAST LIVER KİSMİ İNAKTİVE OLUR (< % 50)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 30)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 65)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 55)	TAMAMA YAKINI İNHİBE OLUR (% 10)	-
Alfa-2	LIVER KİSMİ İNAKTİVE OLUR (< % 50)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 30)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 65)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 55)	TAMAMA YAKINI İNHİBE OLUR (% 10)	HASSAS
	BONE TAMAMEN İNAKTİVE OLUR (% 0)	TAMAMA YAKINI İNHİBE OLUR (% 10)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 70)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 55)	TAMAMA YAKINI İNHİBE OLUR (% 20)	HASSAS
	PLASENTA İNAKTİVE OLMAZ (% 100)	AZ İNHİBE OLUR (% 80)	TAMAMA YAKINI İNHİBE OLUR (% 20)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 50)	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 50)	HASSAS
Pre-β	REGAN İNAKTİVE OLMAZ (% 100)	AZ İNHİBE OLUR	TAMAMA YAKINI İNHİBE OLUR	İNHİBE OLMAZ	KİSMİ İNHİBE OLUR	HASSAS
	NAGAO İNAKTİVE OLMAZ (% 100)	AZ İNHİBE OLUR	İNHİBE OLMAZ	KİSMİ İNHİBE OLUR	KİSMİ İNHİBE OLUR	-
	RENAL KİSMİ İNAKTİVE	KİSMİ İNHİBE OLUR	KİSMİ İNHİBE OLUR	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 60)	TAMAMA YAKINI İNHİBE OLUR (% 20)	-
gama	İNTES TİNE KİSMİ İNAKTİVE OLUR (% 50)	KİSMİ İNHİBE OLUR	KİSMİ İNHİBE OLUR (% 80)	-	-	DAYANIKLI
	PA -	-	-	-	-	-

NOT: (%) olarak verilen değerler inhibisyon ve inaktivasyondan sonra kalan ALP aktivesini içermektedir.

LIVER (KARACIĞER BANDI)

Alfa-2 pozisyonunda yer alır.Kemik bandına göre daha anodiktir.Karaciğer olgularında major banttır.Çok geniş bir grup hastalıkta görülür. Bunlar; akut hepatit, siroz, yağlı karaciğer,karaciğer hastalığına neden olan ilaçlar, pankreas başı kanseri,metastatik karaciğer karsinoma v.s. dir (3,46,84).

BONE (Kemik bandı)

Kemik fosfatazı,karaciğer izoenziminden daha diffüz, çoğu kez de karaciğer izoenzim bandı ile üst üste binmiş vaziyette bulunur (3).

Çocuklarda geniş diffüz kemik bandı,az veya yok denecek kadar karaciğer bandı görülür.Karaciğer ve kemik ALP'lerinin farklı elektroforetik mobilitesi,glukoprotein olan bu enzimlerin yan zincirlerinin farklılığından kaynaklanır (3,11,83,95).

PLASENTAL IZOENZİM

Plasental izoenzim,fenotipe bağlı olarak hareket eder. Pre- β bölgesinde görülür. Plasental ALP gebeliğin 16-20. haftalarında tesbit edilebilir.Doğuma kadar hızla artar.Doğumdan hemen sonra 3-6 günde kaybolur (62).

Plasental ALP, komplikasyonlu hamilelikte örneğin; hipertansiyon,preeklamsi,eklamsi v.s. ekseriyetle artar (11).

1961'de Boyer,nişasta jel elektroforezi ile hamilelikte serum alkalen fosfatazının plasental kaynaklı olduğu,

kordon kanı ve hamile olmayan bayanlarda plasental band olmadığını gösterdi (11).

RENAL BAND;

Nerenberg ve Kranc nadir olarak plasental pozisyon-
da renal izoenzimi rapor etmişlerdir. Bu izoenzim ağır
böbrek hastalıkları ve böbrek transplantlarında görülmek-
tedir (11).

INTESTINAL BAND;

Yetişkinlerdeki intestinal ALP izoenzimi, esas iti-
barıyla küçük intestinal epitelyuma hastır. Bu izoenzimin
böbrek ve servikte de küçük miktarlarda olduğuna dair
biyokimyasal deliller vardır. Fetal intestinal ALP'ın amni-
yotik sıvıda ve mekonyum'da bulunuşu bu formun intestinal
hücreden salgılandığını ortaya koymuştur. Miktarı amniyotik
sıvıda gestasyonun 25. haftasından itibaren düşer. Intesti-
nal dokularda ise 30. haftadan itibaren düşer. Bununla bera-
ber prematüre bebeklerin serumunda rastlanmıştır. Fetal
intestinal forma benzer ALP formu, hepatomalarda bulunmuş-
tur (91).

Fetal ve yetişkin izoenzimleri katalitik özellik
yönünden aynıdırlar. Fetal intestinal ALP'da sialik asit
olduğu halde, yetişkin intestinal ALP'da sialik asit yok-
tur. Dolayısıyla elektroforetik mobiliteleri farklıdır.

Henüz fetal formun ayrı bir genden türeyip türeme-
diği bilinmemektedir. Bu konuda gen düzenlenmesindeki
gelişime bağlı farklılıklar olup olmadığı açık değildir
(6,91).

Intestinal izoenzim hepatomada karaciğerde görülmüş buna Kasahara izoenzimi adı da verilmiştir (2).

B ve O kan grubu kişiler yağlı yemekten 2 saat sonra yükselmiş ALP aktivitesi gösterirler. Bunların izoenzim patternleri karaciğer ve ince bağırsak mukozasından orjin alan intestinal band ihtiva eder. Intestinal band bağırsak perforasyonlarında, ülseratif bağırsak hastalıklarında patolojik olarak görülmektedir.

Son çalışmalar intestinal ALP'nin kan grubu A olan kişilerin eritrositlerine bağlı olduğu B ve O gruplar da bu bağlanmanın daha az derecede olduğu gösterilmiştir (11).

Intestinal ALP'nin serumdaki konsantrasyonu hastalık durumuna göre artar. Karaciğer sirozunda, kronik hemodializlilerde artmış değerler rapor edilmiştir (2).

REGAN BANDI;

Özellikle Akciğer kanserlerinde, meme, yumurtalık, testis tümörlerinde, kolon karsinomu olan neoplazmalı olgularda izole edilmiştir (14). Diğer ismi karsinoplental izoenzimi olan regan izoenzimi plasental izoenzim gibi hareket eder (28).

Regan izoenziminin varlığı veya artışı kanser veya kansere meyili gösterir. Tedavi ile bu bandın kayboluşu tedavinin göstergesi olarak kullanılabilir (11,14).

NAGAO BANDI;

Nagao bandı, aynı Regan izoenziminin pozisyonunda bulunur. Isıya dayanıklıdır. Fakat Fenil alaninle inhibe olmaz. Regan'dan bir farkı da L-leucin ile inhibe olmasıdır.

Safra kanalı, pankreas adenokarsinomu, plevral yüzey metastatik karsinomunda görülmektedir.

Bu bant yalnız polyakrilamid jelle gösterilebilmiş, selüloz asetatla gösterilememiştir. Bu bant karsino plasental izoenzim kategorisine girmektedir. Nagao izoenzimine, plasentaya benzeyen ALP'da denir (44).

PA BANDI;

Cha adlı araştırmacı, PA adı verilen banttan bahsetmekte, pankreas kanseri olan olgularda aplikasyon noktası ile intestinal bant arasında (gamada) görüldüğünü belirtmektedir.

PA izoenzimi müsbet olan 16 hastanın yapılan ileri tetkikleri sonucu 15'inin pankreas kanseri, birinde hemocromatisisli olduğu teşhis edilmiştir (11).

Kaplan, normalde serumda en fazla bulunan ALP izoenzimlerini ve yüzdelerini aşağıdaki şekilde vermektedir (11).

Grup	Kemik	Karaciğer	Diğerleri
Çocuk ve erişkin	% 85	% 5	< % 10
Yetişkin	% 45	% 45	< % 10
Yaşlılık	% 30	% 60	< % 10

Intestinal ALP'ı hariç diğer tiplerin yüke bağlı özellikleri, özellikle karbonhidrat zincirinin ucunda bulunan kuvvetli iyonize olmuş N-asetil nöraminik asit (sialik asit) artıklarınca belirlenmektedir (16). Intestinal dışı ALP'ların doku içerisinde gösterdikleri homojensiz-

likler nöraminidaz hazmı ile çok azalır (6). Eger muamele sonuna kadar devam ettirilirse karaciğer ve kemik fosfatazlarının elektroforetik mobiliteleri arasındaki fark kaybolur. Buna rağmen bu iki izoenzim arasındaki farkların sadece sialik asit artıklarından ileri gelmediği düşünülmektedir. Bu iki fosfataz ısıya dayanıklılık farkı gösterirler ve bu dayanıklılık nöraminidaz ile etkilenmez (2,81) (Tablo 1).

Yine Akciğer ALP'nin stabilitesi, kemik fosfatazının gösterdiği değere doğru diğer glikozidazlar ile yapılan modifikasyonlarla düşürülebilir. Böylece kemik ve Akciğer fosfatazlarının özellikleri arasındaki farkların her ikisinin de ortak bir protein çekirdeği içerdiğini, fakat yapılarında doku özel farklılıkları veya karbonhidrat yan zincirleri organizasyonu arasındaki farklılıkları da göz önünde tutularak, bariz ve kalıcı olduğu kabul edilmelidir (34,86).

İnsanlarda yapılan çalışmalarda ALP izoenzimleri için 4 değişik lokalizasyonun olduğu ortaya konmuştur (39,47).

Bunlar;

a- Karaciğer/kemik/böbrek (L/B/K) geni veya doku non-spesifik ALP'ı denmektedir. Tüm dokularda vardır. Non-spesifik ALP özellikle mineralize olan kemikte yüksek affinite gösterir ve osteoblastik hücrenin plazma membranına yerleşmiştir.

L/B/K ALP'ları bir tek genin ürünüdür.Yani bir tek genin modifikasyonu ile oluşmaktadır.Bu genin ürünleri bu dokulara spesifik variantlar üretir.Bu variantlar net moleküler yük bakımından ve ısı denatürasyonuna dayanıklılık yönünden birbirinden ayrılabilirler.

b- Intestinal lokus; Bu genin ürünü olan ALP intestinal mukozada ifade edilir.Epitelyal hücrelerin fırçası kenarında bulunur.

c- Plasental lokus; Plasental ALP'ı sentezler 12 haftalık hamilelikten sonra belirir.Syncytiotrophoblast' larda çok miktarda meydana gelir. Az olarak Akciğer ve servikte ortaya çıkar.

d- Plasentaya benzeyen lokus (Plasental Like ALP); Plasental ALP'ın yapısına çok benzer.Fakat idantik değildir.Plasentaya benzeyen ALP (PLAP),plasental ALP (PAP)'dan farklılığı bazı monoklonal antikörlerle reaksiyon verişidir.Ayrıca PLAP L-leucinle inhibisyona uğrar.Aynı inhibisyonu plasental ALP'ın nadir bir variantıda verir.

Sağlıklı kişilerde testis ve timusta çok az miktarda bu enzime rastlanmıştır.Testiste bu enzim immature germ hücrelerinin membranına yerleşmiştir. Ayrıca Akciğer ve nonmalign endoservikte'de görülür.

Memeli kromozomları üzerindeki yerleri ise;intestinal,plasental ve plasentaya benzeyen izoenzimlerin genleri, 2 nolu kromozomun uzun kolunun sonunun yanında lokalizedir. Tersine L/B/K lokusu, 1 nolu kromozomun uzun kolunun sonunun yanındadır (39).

Plasental ALP ve plasentaya benzeyen ALP formlarının her ikisi de birlikte akciğerde gözleendiği, fakat sigara içme gibi bir etkiyle farklı olarak salındıkları ortaya çıkmıştır (6).

PAP belirli bir genetik polimorfizm gösterir. 3 farklı allel ile dimerik enzim 6 fenotipe kadar, 15 nadir allel ile 38 fenotip gösterir. Fetüsün genotipi, plasentada ifade edilen PAP'ın fenotipini tayin eder (6).

Hepatomada bulunan kasahara izoenzimi (KI)'nin birçok özellikleri yetişkin ve fetal intestinal ALP'a benzer. Fakat nöraminidaz etkisi ile ve etkisi olmadan elektroforetik göçü değişiktir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda FL-amnion hücrelerinde 2 tip ALP izoenzim olduğu bulunmuş, bunlardan FL-ALP_f (hızlı göçeden ALP)'ın immünolojik ve enzimatik özellikleri yönünden KI'nin aynı olduğu gözlenmiştir (39). FL amnion hücrelerinden cDNA clonu izole edilmiştir. cDNA'nın 2525 baz çifti uzunluğunda olduğu gözlenmiştir. DNA'nın 3'ucundaki translasyona uğramayan kısmının yetişkin intestinal ile aynı olduğu bulunmuş, fakat 5'ucundaki translasyona uğramayan bölüm intestinal ALP'dan daha uzun olarak gözlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak FL-ALP_f (KI) fetal veya intestinal ALP'ın değişik bir şekilde glikozilasyonu ile oluşabileceği zannedilmektedir. KI ilk olarak Higashino ve arkadaşları tarafından gözlenmiştir (42).

Bir seri Lectin affinite kromatografisi çalışmaları rında çok enteresan sonuçlar alınmıştır.

Sıçanda ve insanda yapılan çalışmalarda plasental, intestinal ve L/B/K ALP'lerde farklılıklar gözlenmiştir.

L/B/K ve jejunal ALP'lar farenekinine benzerlik göstermiştir. Sonuçlardan ALP'ın glikozilasyonunun organa spesifik olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalarla glikozilasyon şimdilik türe spesifik görünmemektedir. Sıçanda plasental, L/B/K ALP izoenzimlerinin bir çok özellikleri aynıdır. İnsanda ise plasental ve L/B/K'nın özelliği çok farklı bulunmuştur (39).

Kanserli dokuda oluşan Regan, Nagao ve plasentada oluşan enzimler birbirleri ile esasta aynı olmalarına rağmen, muhtemelen translasyon sonrası modifikasyon veya tümör enzimlerinin somatik mutasyonu sebebi ile aralarında bazı küçük farklılıklar görülebilmektedir.

ALP aktivitesi saklama koşullarına göre değişiklik gösterir. Yapılan araştırmalarda dondurulmuş serum çözülünce birinci saatte ALP aktivitesinde %1'lik artış görülmüştür. Tekrar dondurma artış hızını azaltmakta, oda ısısında tutma ise hızlandırmaktadır. 4°C'de aktivite artışı yine vardır, fakat yavaştır. % 2/gün gibi (11).

Diğer taraftan serum numunelerinin bekletilmesiyle CO₂ kaybedilmekte ve NH₃ artışı meydana gelmektedir. Dolayısıyla pH artışı olmakta buda ALP'ın serumunda %30'a varan aktivite artışlarına neden olmaktadır (11).

ALP'ın FİZYOLOJİK FONKSİYONLARI

ALP'ların vücutta pek çok fizyolojik olayı kataliz ettiği ileri sürülmüştür.

Bunlar;

1-Aktif transport yapan hücrelerde bol olarak bulunması bazı maddelerin transportuna yardımcı olduğunu göstermektedir.

2-Yüksek yağlı bir diyet alındığında ince barsak mukozasında ALP'da artma olmaktadır.

3-Barsakta kalsiyum absorpsiyonu ile ALP artışı paralel gitmektedir. D vitamini alınmasıyla da barsak ALP enzimi 2-3 misli bir artma göstermektedir (34).

4-Sağlıklı insan lökositlerinde düşük düzeyde bulunan ALP enziminin glikojen sentezi ve yıkımına katıldığı ileri sürülmüştür (34).

5-Enzim hem DNA'yı hem RNA'yı hidroliz edebilmektedir (34).

6-Pürin ribonükleotid yıkımında, intrasellüler kontrolün ana noktasını, pürin nükleosid monofostatların nükleozidlere ve inorganik fosfata yıkılması olayını, hücre içi ALP'ı kataliz etmektedir.

7-Hücre içi 5' pridoksal fosfat seviyesini kontrol eder.

8-Sitoplazmik glukokortikoid reseptörlerinin steroid hormon bağlama özelliklerini denetimi altında tuttuğu gösterilmiştir (34).

9-Plazma ALP'nın eritrositlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Eritrositlerin şeklinin yapısal bütünlüğünü, membran proteinlerinden bilhassa spektrin-aktin kompleksinin fosfarilasyonunu sağlar. Plazma ALP'ı eritrosit yüze-

yinde fonksiyon yaptığı ve glikoliz için gerekli inorganik fosfat ile kalsiyum iyonlarının da eritrosite transport edilmesine yardımcı olduğu gösterilmiştir (34).

10-Plasental ALP fetal hayatın devamı için anneden alınacak besinlerin absorpsiyonuna ve aktif olarak transportuna yardımcı olmaktadır (34,91).

ALKALEN FOSFATAZ VE İZENZİMLERİNİN KLİNİKTEKİ ÖNEMİ

Alkaleen fosfataz ölçümleri son 30 yıldır karaciğer fonksiyon testleri ile birlikte, karaciğer hastalıklarının teşhisinde çok fazla kullanılmaktadır. Diğer yaygın bir kullanım alanıda hiperparatiroidizm ve kemik hastalıklarının tesbitidir.

Karaciğer ve safra kesesi rahatsızlıklarında yükselmiş alkaleen değeri görülür. Sarılıkta ALP'in yükselmiş plazma düzeyi, enzimin retansiyonuna bağlı olarak artar. Aynı mekanizma ile bilirubin düzeyi de yükselmektedir (47). Safra kanalında oluşan tıkanma sonucu kanal hücrelerinde enzim sentezi artmaktadır. Artan enzimin karaciğer kökenli olduğu, kemik izoenziminin değişmediği izoenzim çalışmaları ile gösterilmiştir (11).

Ekstra hepatik tıkanmada (taş, pankreas başı kanseri) intrahepatik tıkanmaya (ilaç toksikasyonu) göre ALP artışı daha fazla olmaktadır. Tıkanma tam olunca artış maksimuma çıkmaktadır. Cerrahi müdahale ile tıkanma giderilince normale dönmektedir (11,34,62,84).

Karaciğer parankim hücrelerini etkileyen enfeksiyöz-hepatit gibi hastalıklarda artış orta düzeyde olmaktadır.

Osteoblastik aktivite artışına bağlı olarak serum ALP'ı artar.Osteoklastik hastalıklarda ALP normal düzeydedir.

Fizyolojik olarakta gelişme çağındaki çocuklarda ALP normalin 2-2.5 mislidir.Rheomatoid arthritisi,osteomalazi ve raşitizm, kemiğin paget hastalığı, kemikte ikincil kanser,bazı osteojenik sarkom bulgularında yüksek ALP düzeyi görülür (13,102).

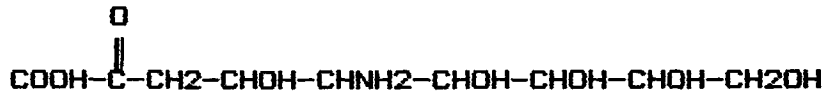
Hipotroidi, konjenital hipofosfatemi, skorbüt'te düşük ALP düzeyleri görülür (11,102).

Bazı çalışmalar yüksek proteinli diet alınmasının ALP aktivitesinde düşmeye,yüksek karbonhidrat alınması ve alimenter hiperglisemi de ise yükselmeye neden olduğunu belirtmektedir (11).

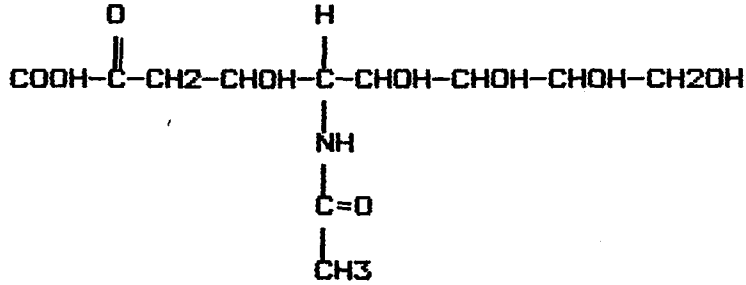
SIALİK ASİT (S.A)

Nöraminik asitin N-açıl türevleridir.Nöraminik asit, 9 C'lu bir türev monosakkarittir.Nöraminik asitin asetilleşmiş şekline N-Asetil nöraminik asit,glikolillesmiş şekline N-kolil nöraminik asit denir(16,79,96,99,) (Şekil 4).

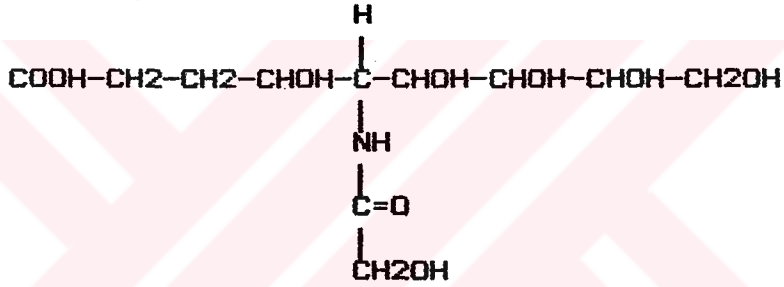
N-Asetil Nöraminik Asit (sialik asit) Fruktoz-6-P'in glutaminden aldığı amin grubu ve bir dizi reaksiyon sonunda oluşturduğu N-asetil mannozaminle,fosfoenol piruvattan meydana gelir (Şekil 5).



Nöraminik asit



N-Asetil Nöraminik Asit (NANA)

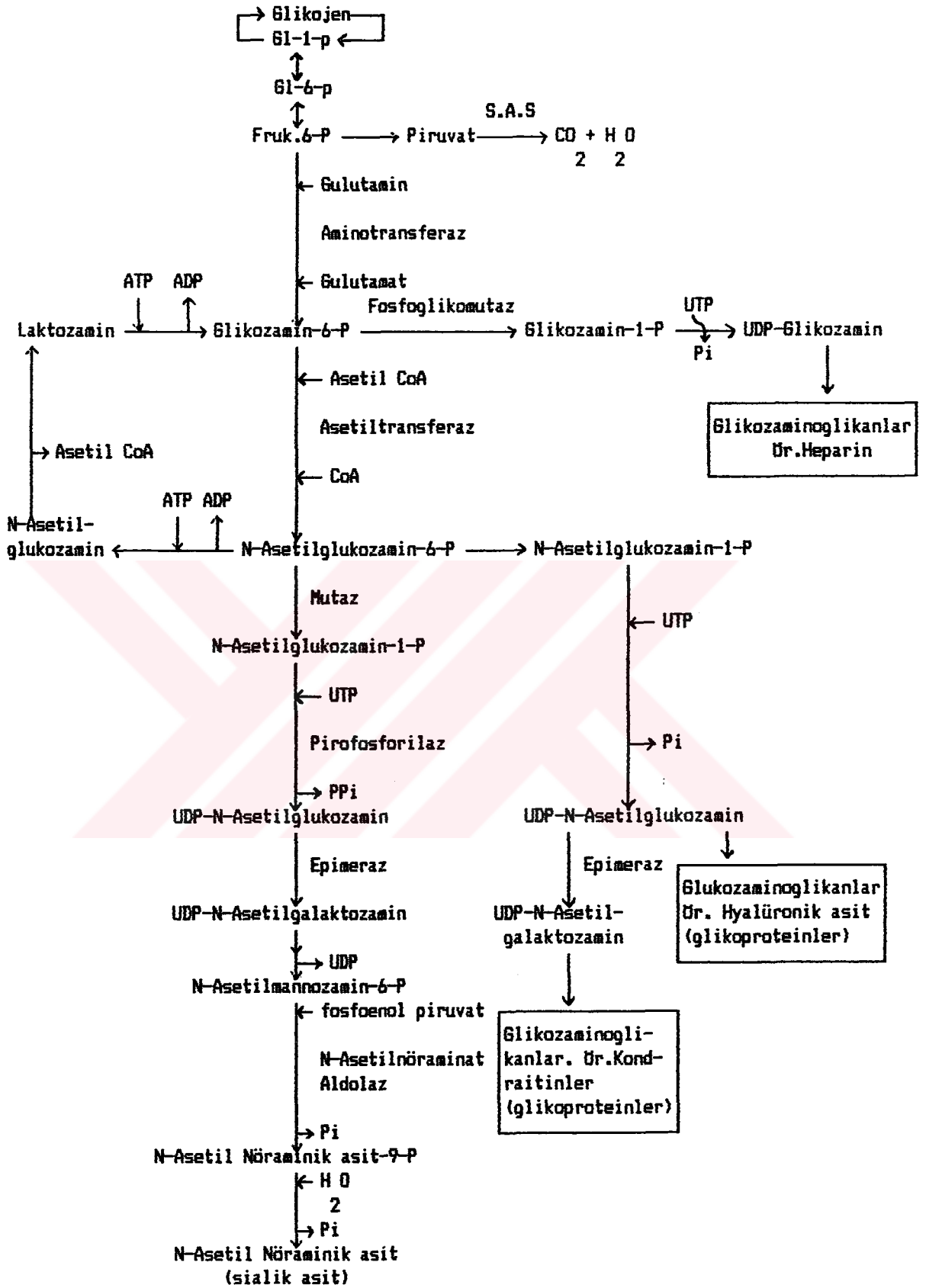


N-Kolil-Nöraminik Asit

Şekil 4: Sialik asitin kimyasal yapıları (16).

Sialik asit insan ve hayvan vücudunda glikoproteinlere, gangliyositlere, glikolipidlere ve az miktarda da türev oligo ve polisakkaritlere glikozidik bağla bağlanan yapısal ünitelerdir (16,21,99).

Hücre membranları ve hücre örgütlerinin glikolipid ve glikoproteinlerinde bulunan oligosakkarit zincirlerinin önemli bir yapı taşıdır. Hücre membranlarının çok küçük bir kısmını oluşturmalarına rağmen büyüme, hareket, endositoz, morfogenez, transformasyon gibi hücre sel olaylarda önemli rol alır (79).



Şekil 5: N-Asetil Nöraminik Asit Sentezi Yolu (58,59).

Omurgalı dokularında yaygın bir şekilde buldukları gibi bazı bakteri türlerinde de izole edilmiştir.

Sialik asitler, oligosakkaritlerin yapısına golgi kompleksinde katılır. Golgi kompleksinde en az 4 değişik sialil transferaz enzimi bulunur ve protein bağlantılı oligosakkaritlerin sialilasyonu için CMP-sialik asidi donör olarak kullanır. CMP-sialik asidin sentezi bütün hayvan hücrelerinin nukleusunda oluşur. Diğer nükleotidlere bağlı şekerlerin sentezi ise stoplazmadadır. Sialik asitler glikoprotein ve gangliyositlerin sentezi esnasında oligosakkarit zincirinin terminalinde subterminal galaktoz artığına bağlı olarak bulunur (58). Plazmada bulunan bir çok glikoproteinlerin oligosakkarit zincirlerinin terminali de bu şekildedir (sia- α 2-3 veya 2-6 gal veya sia- α 2-3 galNAc). Bu proteine bağlı şekilde dolaşımda saatlerce veya bir kaç gün kalır. Bir süre sonra terminal sialik asit kalıntıları bazı organlardaki sialidaz (Nöraminidaz) etkisiyle ayrılır. Galaktoz veya N-asetil galaktoz amin açığa çıkar ve karaciğer tarafından dolaşımdaki glikoproteinler temizlenir. Internalizasyon için bir kaç galaktozun açığa çıkması yeterli değildir, çok sayıda galaktoz rezidülerinin açığa çıkması gerekmektedir (79). Sialik asit negatif yüklü olup, pozitif yüklü iyonları (Ca⁺⁺) bağlayıcı bir özellik gösterir. Bu nedenle katyon değişimi yaptığı ve reseptör gibi davrandığı gösterilmiştir.

Sialik asit vücutta bir çok yerde örneğin; tükrük müsinini, eritrosit zarı, gastrik mukusta, sinir hücrelerinde,

sinaptik aralıkta, Ig'lerde ve bazı tip apoprotein,hormon ve enzimlerin yapısında bulunurlar.

İnsan ve kobaylarda submaksiller musin'de fukoz ve galaktoz bulunduğu gibi sialik asitte bulunur.Sialik asit arttıkça tükürük salgılarının kıvamı da artar. Sialik asidin uzaklaştırılmasıyla musin solüsyonlarının viskozitesinin hissedilir derecede düştüğü gösterilmiştir (79).

Ayrıca gastrik mukus ta,submaksiller musine benzer ve az oranda sialik asit içerir (79).

Sialik asit,glikoprotein yapısındaki hipofizer hormonların yapısında yer alan maddelerden birisidir.Glikoprotein hormonların hedef hücre reseptörleri tarafından tanınması için sialik asidin gerekli olmadığı tahmin edilmektedir (100).Kolera toksini ve interferon gibi maddelerin yapısına katılmaktadır.Bazı bakterilerin yüzeylerinde kapsüller sialik asit mevcuttur.Örn. Tip 3 grup B streptokoklar,grup B ve C Neisseria meningitidis ve K (1) Escherichia coli sayılabilir (100).

Sialik asidin,hücre periferinde glikoprotein ve glikolipid yapılarına girerek hücre antijenitesinde önemli rol oynadığı son yıllarda yapılan araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır (17).Nöraminidaz ile ayrılan serbest sialik asidin hücre yüzeyinde kalan parçası otoantijen özellik kazandığından otoantijenlerin oluşmasında sialik asidin de rolü olduğu düşünülmüştür (17).Normalde plasentanın trofoblast hücrelerinin yüzeyinde bulunan ve sialik asit bakımından zengin glikoprotein tabakası,fetüsle anne

arasındaki immünobariyeri oluşturur.Böylece annenin fetüse karşı antikor oluşturması ve fetüsün rejeksiyonu önlenir (21).

Eritrosit zarında bulunan ve bir glikoprotein olan glikophorin yapısında bulunur.Glikophorinin N-terminal ucunda ilk 50 rezidü oligosakkaritleri içerir.Hücre dış yüzeyinde yer alan bu formun % 75'i sialik asitten oluşmuştur (15,79).

Hücre periferinin diğer bileşenlerinde olduğu gibi sialik asit miktarı da büyümede ve hücre mitozu sırasında artmaktadır.Hücrelerin çevreleri ile olan ilişkilerini düzenleyen sialik asit aynı zamanda pituiter gonodotropin ve eritropoetin gibi hormonların yapısal ve fonksiyonel bütünlükleri için çok gereklidir.

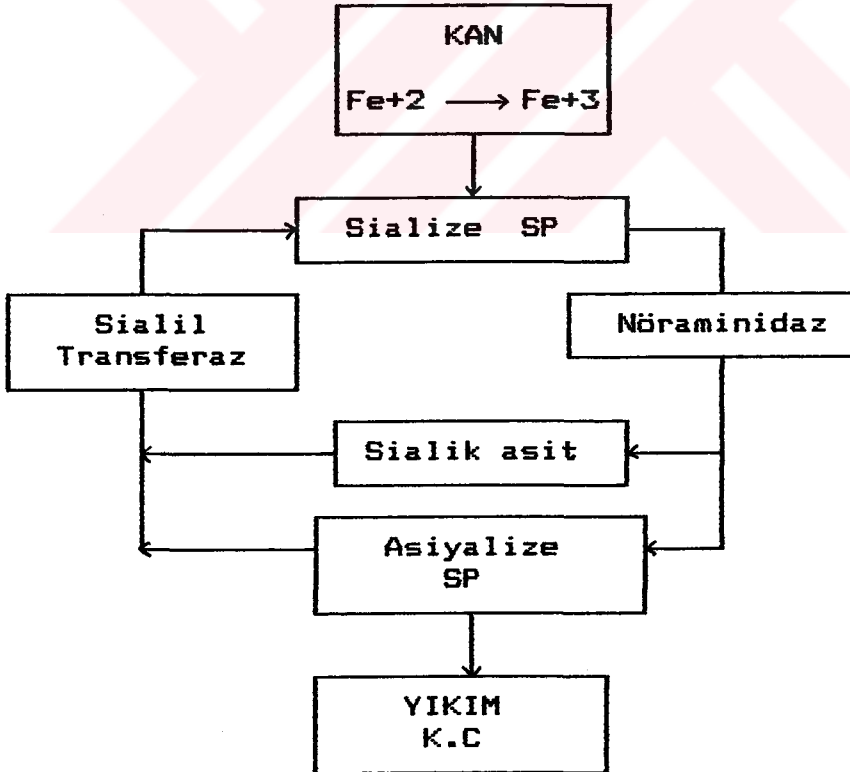
Hücre zarında sialik asit serbest ve bağlı olmak üzere iki şekildedir (79). Serumda total sialik asit düzeyleri proteine ve lipide bağlı sialik asit düzeylerinin toplamıdır (21).Bunun 1/3'ü proteine, 2/3'ü lipide bağlı olarak bulunur (73,79).

Ayrıca sialik asit bakımından zengin olan gangliyositler mono,di ve tri sialil gruplar halinde,sinir hücrelerinden zengin olan bölgelerde örn. Retinada ve miyelinli aksonlarda (optik sinirlerde) bulunurlar.Sinaptik aralıkta sürekli bulunan yüksek aktiviteye sahip sialiltransferaz enzimi de sialik asidi glikoprotein ve glikolipidlere transfer eder (15,79). Aynı zamanda asetil kolin ve diğer nörotransmitter maddelerin reseptör uçlarında

bulunurlar (24).

Sialik asit NANA (N-asetil nöraminik asit) aldolaz'ın etkisiyle mannozamin ve piruvata yıkılır. Ayrıca gözyaşı, sümük, balgam, mide salgısı, süt, yumurta akı ve dokularda bulunan lizozim, NANA'nın β -1.4 bağlarını yıkar. Ayrıca lizozim bir çok bakterinin hücre duvarını da yıkan bir enzimdir (16).

Sialik asit serüloplazminin yapısına da girer. Vücutta serüloplazmin dengesi için düşünülen varsayıma göre sialize serüloplazmin, nöraminidaz etkisiyle asialize serüloplazmin ve sialik aside, sialil transferaz etkisiyle de sialize serüloplazmin haline geçerler (Şekil 6).



Şekil 6: Vücutta serüloplazmin ve bunda sialik asidin rolü (16).

Normal metabolizmada karaciğerde oluşan biyokimyasal olaylarda, kanda ve neoplastik hücre yüzeylerinde sialil transferaz aktivitesi arttıkça sialillendirme olayı görülür (97). Metastatik tümörlerin bizzat kendileri serum sialil transferaz enzimlerini arttırmakta ve sialilat antijenleri tümör hücrelerinin yüzeyinde plazmaya yayılmaktadır. Neoplazilerde serüloplazmin düzeyinin artması, tekrar sialillendirmeye bağlı yıkımın azalmasına bağlanabilir (15,40,84).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda tümör hücresi membranlarında normal hücreden farklı bir şekilde ve fazla miktarda gangliozid oluşturduğu ve depolandığı gözlenmiştir. Bu gangliozidlerin hepsinde fazla miktarda sialik asit içermektedir (9,73,88). Sialik asidin çoğunluğu lipide bağlı bulunmaktadır.

Bu gliko konjugatlar hücre yüzeyinin major yapısal elemanlarıdır (22). Tümör hücre yüzeyinde genellikle sialik asit artışı vardır ve sialoglikoproteinler bu hücreler tarafından kana akıtılır veya sekrete edilir. Bu artış bir tip kanser için spesifik olmayıp melanoma, akciğer kanseri, prostat kanseri, gastrointestinal sistem, jinekolojik sistem için de geçerlidir (23,25).

Hücre membranlarında sialik asit artıklarının birikimi hücre davranışını büyük ölçüde etkiler (21). Literatürde sialik asidin organ kanserlerinde bir tümör "marker"i olarak kullanıldığı gözlenmektedir (18,21). Ayrıca serum total sialik asit seviyesinin bakteriyel enfeksiyonlarda

ve kronik karaciğer(21) ve bir çok hematolojik hastalıklar-
da(21) önemli miktarda yükseldiği bildirilmiştir(15,21,70).

Hepatomalı, fare serumlarında sialogangliyosidlerin yüksek düzeyde buldukları gözlenmiştir.Yine hepatoma hücre mebranlarının normal karaciğer hücresi membranlarına kıyasla daha yüksek oranda sialogangliyosid içerdikleri kanıtlanmıştır.Bu sonuçlar kandaki sialogangliyosidlerin artışının tümör hücrelerinden kaynaklanabileceği görüşünü ortaya çıkarmıştır.Bir çok araştırmacı meme kanseri,prostat kanseri,mesane kanseri,malign melanoma, lenfoma kolon kanseri ve Akciğer kanserlerinde,yüksek serum sialik asit düzeyleri saptadıklarını bildirmişlerdir (19,70).Talasemi-ya'da sialik asit düzeyi çok düşük bulunmuş, Sickle Cell hastalığında ise hem hücre membranında hem de serumda sialik asidin azaldığı görülmüştür (19,24).

Bredley ve Dnistrian yaptıkları çalışmada serum sialik asit değerleri ile akut faz proteinleri arasında ilişki saptamışlardır (19).Silver ve arkadaşları,akut faz reaktanlarının artışı ile sialik asit değerinde yükselme olduğunu bildirmişlerdir (100).

Yaş,cinsiyet,sigara içimi ve oral kontraseptiflerin kullanımı sialik asit düzeylerini etkilediği bildirilmiştir (100).

Serum total sialik asidi hem lokalize hem de metas-
tazlı malignitelerde belirgin artış göstermektedir.En yük-
sek değerler akciğer kanseri,gastrointestinal,jinekolojik kökenli kanserlerde saptanmıştır (51).

SERÜLOPLAZMIN (SP)

Genetiksel olarak polimorfizm gösteren serüloplazmin ilk defa 1948 yılında bulunmuştur.Serüloplazmin (SP) moleküllerinin polimorfizme sahip olduklarını Martin ve arkadaşları 1961 yılında bildirmişlerdir (16).

Serüloplazmin insan serum ve plazmasında bulunur. Molekül ağırlığı 123.000-160.000 olup, alfa-2 globulin fraksiyonunda yer alır.SP bakır içeren,enzimatik ve anti-oksidan etki gösteren,mavi renkli bir glikoproteindir(99).

Serüloplazmin önce karaciğerde 1042 aminoasitlik düz bir polipeptid zinciri halinde sentezlenir. 6 atom bakır bağlar ve plazmaya salgılanır.Serüloplazmin hepatositlerden salgılanmadan önce bakırla bağlanır.Bakırın serüloplazmine bağlanma şekli henüz tam açıklanamamıştır(60). Dolaşımda bulunan serüloplazminin % 10 kadarı apoprotein şeklinde bulunur.Muhtemelen bu karaciğerde bakırsız olarak sentez edilip dolaşıma salınır (60).

Bazı kinetik çalışmalar,Bakırın serüloplazminin yapısına,biyosentezin erken aşamalarında girdiğini göstermiştir (33,60).Ribozomal endoplazmik retikulumda sentez edilen polipeptide karbonhidrat artıkları ilave edilmektedir. % 7 karbonhidrat içerir (33,99). Bu karbonhidrat artıklarından % 3'ü galaktoz ve mannoz, % 0.18'i fukoz, % 2.4'ü heksozamin ve % 2.4'ü sialik asittir (69).Serüloplazmin yapısında bulunan karbonhidrat ekinin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir.Sato ve Gitlin tarafından yapılan çalışmada (60),serüloplazmin endoglikozidaz ile muame-

le edilmesine rağmen, oksidaz aktivitesinin devam ettiğini ve bakırın serüloplazmine bağlanmasında karbonhidrat ekinin gerekli olmadığı gösterilmiştir (60).

Serum glikoprotein dengesini inceleyenler, nöraminidaz etkisi ile iki veya daha fazla sialik asidin kopması ile oluşan asialo serüloplazminin, karaciğer tarafından hızla dolaşımdan alındığını göstermişlerdir (37,52). Asialoserüloplazmin karaciğer hücre zarında sialik asit kapsayan bir reseptörle birleştikten sonra, hücreye girip yıkılmaktadır.

İnsan serumundaki bakırın % 95'i serüloplazmin tarafından taşınır (27,33,99). Bakır serüloplazminin sentezini arttırır. Serüloplazmin bir akut faz proteindir (49). Oluşan herhangi bir doku hasarına karşılık karaciğerde sentezlenir ve gereği kadar plazmaya salgılanır (101). Antioksidan aktivitesi sayesinde meydana gelen doku hasarını azaltmaya yönelik bir artış gösteren serüloplazmin immünolojik ve enzimatik yöntemlerle ölçülebilir (102).

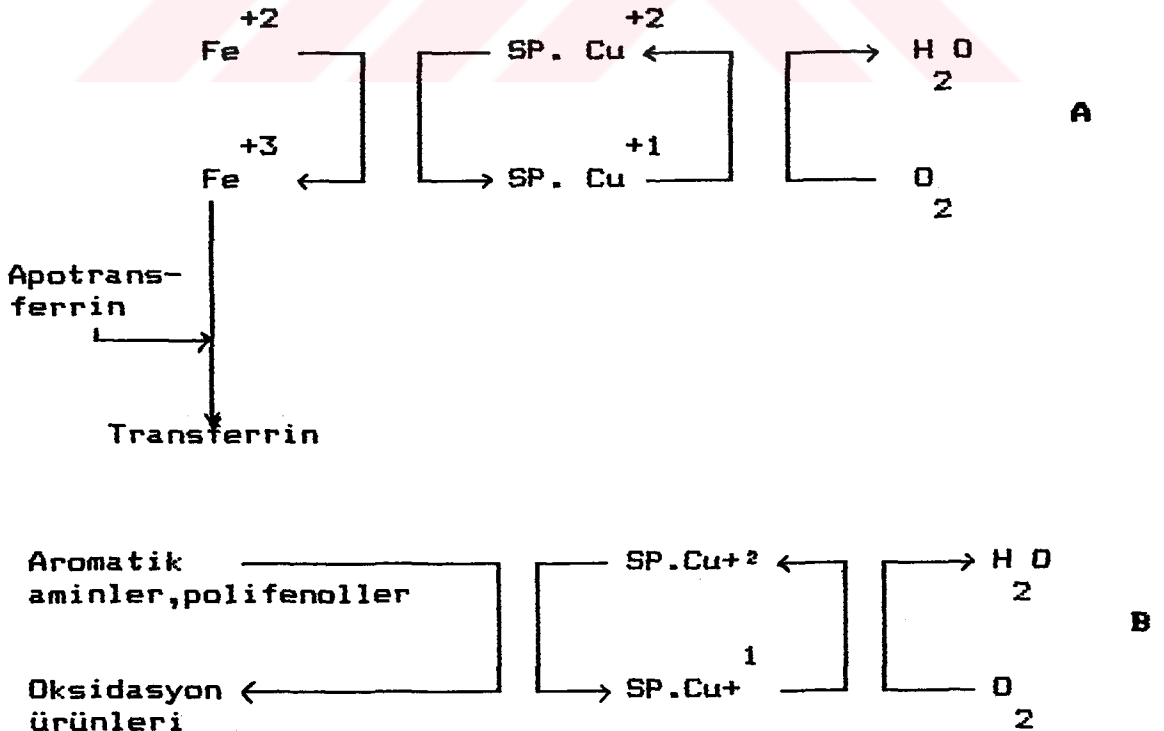
Serüloplazmin bakırını dokulara vermez, ancak bakırlı enzimlere aktarır. Yarılanma süresi 5-7 gündür.

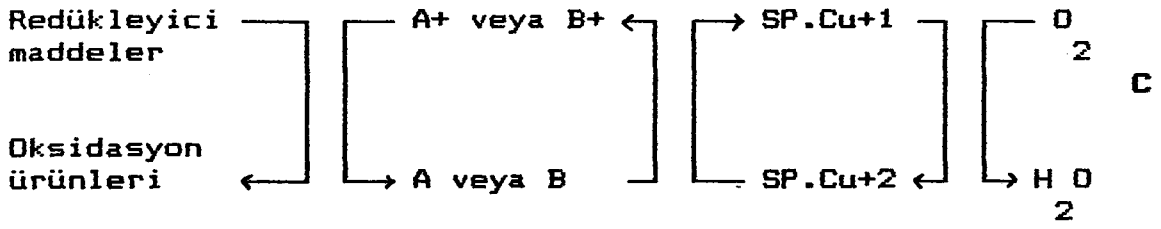
Serüloplazminin biyolojik rolü pek çok çalışmaların halen konusu olduğu halde, olası fonksiyonları şunlardır.

1-Taşıyıcılık fonksiyonu: Serüloplazmin bakır taşır. Karaciğere gelen bakır, apoprotein ile birleşir ve enzimlere dahil olabilecek stabil bir bakır havuzu oluşturur.

2-Oksidaz fonksiyonu: 1960 yılından sonra Curson ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada N,N-dimetil-P-fenilendiamini bir substrat gibi kullanarak,ferro iyonlarının SP aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir (54).Bazı araştırmacılar da bu aktiviteden dolayı serüloplazmine ferro-oksidoredüktaz (E.C. 1.12.3.1) adını vermişlerdir (61,68).Serüloplazminin oksidaz aktivitesi moleküldeki bakır atomlarına bağlıdır.Serüloplazmin substratla birleşince yapısındaki Cuprik (Cu⁺⁺) atomlar Cuprous (Cu⁺) forma döner ve daha sonra moleküler oksijen ile yeniden Cuprik forma dönerler.Siyanür ve azid gibi bileşikler serüloplazminin yapısındaki bakır bağlarına etkili olarak enzimatik reaksiyonu inhibe ederler (53,99).

Şekil 7'de serüloplazminin substratları görülmektedir.





Şekil 7: Serüloplazminin Substratları

A grubu substratlar (ferrooksidaz aktivitesi):

Demir ve bakır metabolizması arasındaki bağı ferrooksidaz sağlamaktadır (Şekil 7 A). Ferro iyonlarını ferri haline okside ederek apotransferrine bağlanmasını sağlar (64).

B grubu substratlar (Oksidaz aktivitesi):

Katekolamin, 5-hidroksiindol ve fenotiozinli ilaçlar gibi aktif bileşikler, demir yokluğunda serüloplazmin için birer substrattırlar (56). Serüloplazmin ve bakırın parafenilendiamini ve benzidini okside etme yetenekleri arasında sıkı bir ilişki vardır (16) (Şekil 7 B).

C grubu substratlar (Antioksidan fonksiyonu):

a- Invitro aktivite: Antioksidanlar üzerine yapılan çalışmalar, insan serumundaki alfa-2 globulinlerin lipid peroksidasyonlarını önemli ölçüde inhibe ettiklerini göstermiştir (92). Bundan sorumlu maddeninde serüloplazmin olduğu kanıtlanmıştır (85). Bunun için doğal katalizörler demir ve askorbattır.

b- Invivo aktivite: Enflamatuvar durumlar süresince serüloplazminin iki antioksidan etkisi görülmüştür. Birincisi serbest katalizör gibi etki ederek doku yıkımı nedeniyle serbestleştirilmiş demirin korunması, ikincisi ise fagositik lökositlerce ekstrasellüler sıvıya yayılan serbest redikallere karşı direkt bir inaktivasyon etkisidir (101).

Serüloplazminin bu fonksiyonları, vücudun savunma mekanizmasını gerektiren hallerde artmasıyla ortaya konmaktadır. Serum düzeyleri kanser, artrit ve tüberküloz gibi inflamatuvar durumlarda olduğu kadar (49,66), gebelik, laktasyon ve kronik ekzersiz gibi patolojik olmayan durumlarda da artmaktadır (101).

Serum serüloplazmin konsantrasyonunu ve oksidaz aktivitesi düzeyleri üzerindeki değişiklikleri regüle eden mekanizmalar bilinmemektedir (101). Ancak malign ve non malign (akut ve kronik inflamatuvar hallerde) olmak üzere çok çeşitli hastalıklarda yüksek düzeyleri gözlenmektedir (101). Serüloplazmin üzerinde yapılan ilk kültür çalışmaları da östrojen ve bakırın biyosentezini arttırdığını göstermiştir (101,102). Yine Syrian hamsterlerinde, turpentin ile oluşturulan inflamasyon ile hepatik serüloplazminin mRNA miktarının 6-10 katına ulaştığı görülmüştür (101). Son zamanlarda yapılan pek çok çalışmalarda SP oksidaz aktivitesinin sigara içenlerde azaldığı tesbit edilmiştir (31,65, 66).

Hiperserüloplazminemi yapan hastalıklar:

Koroner tromboz, Akut ve kronik enfeksiyonlar, malignite ve metastazlar, lösemiler, Hipertroidi, obstrüktif sarılıklar, enfeksiyöz hepatit, hepatit siroz, şizofreni ve östrojen alınması (16).

Hiposerüloplazminemi yapan hastalıklar:

Malabsorbsiyon sendromu, hiposerüloplazminemi, protein emilim enteropatisi, nefrotik sendrom, hepatik sendrom ve fulminan hepatit (16).

MATERYAL VE METOD

I- ÖRNEKLERİN SAĞLANMASI

1. Bu çalışma, Aralık 1990, Nisan 1991 tarihleri arasında, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniğinde ve Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezi, Keçiören Senatoryum Hastahanesinde yatmakta olan, histopatolojik olarak kesin tanı almış Akciğer ve Akciğer zarı kanseri tanısı konmuş hastalarda yapılmıştır.

2. Hastalar 31-68 yaş grubu arasında olup 3 kadın, 34 erkek olmak üzere toplam 37 kişilik hasta grubu seruminde çalışılmıştır.

3- Bu çalışma için seçilen 20 kişilik kontrol grubunda

a) Hiç sigara içmemiş olmaları,

b) Son iki yıl içinde Akciğer rahatsızlığı geçirmemiş olmalarına dikkat edilmiştir.

II- Kullanılan Araç ve Gereçler

1. Otoanalizör (Beckman- CX-5)
2. Santrifüj (Beckman)
3. Spektrofotometre (Bousch-Lamb)
4. Su banyosu
5. Otomatik pipet (oxford)
6. Cam, deney ve santrifüj tüpleri, pipetler
7. Sialik asit kiti (Boehringer).

III- Elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde bağımsız iki ortalamayı test eden Student's "t" testi ve "Pearson'ın momentler çarpımı korelasyon katsayısı" yöntemi uygulanmıştır.

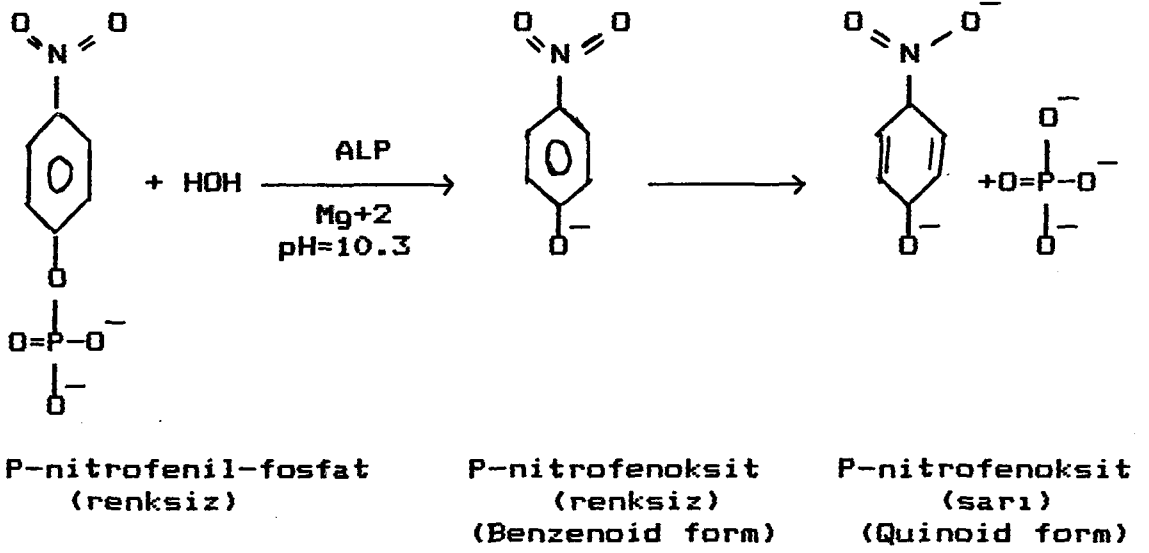
ALKALEN FOSFATAZ TAYINI

Alkale n fosfataz BECKMAN CYNCHRON CX-5 otoanalizörü ile ölçüldü.

<u>Kimyasal maddeleri:</u>	<u>Konsantrasyonu</u>
1. Tampon Solüsyon	
2-amino- 2-metil- 1-propanol (AMP)	350 mmol/L
2. P-nitro fenil fosfat,	15 mmol/L
Mg ⁺⁺	2 mmol/L

Prensip: Alkale n fosfataz aktivitesini enzimatik hız metodu ile ölçmek için, 2-amino-2-metil-1-propanol tampon çözeltisi kullanıldı.

Bu reaksiyonda ALP renksiz bir substrat olan P-nitro fenil fosfata (organik fosfat esteri) etki ederek sarı renkli P-nitro fenolu ve inorganik fosfatı oluşturur. Bu reaksiyon pH=10.3'te oluşur.



Normal değerleri = 20-90 IU/L ALP

SIALIK ASIT TAYINI

Kimyasal Maddeler:

1. Lyofilize reaktif karışımı A: Nöraminidaz ve 4-aminoantiprin ihtiva etmektedir.
2. Lyofilize reaktif karışımı B: Nöraminik asit-aldolaz, piruvat oksidaz, peroksidaz, flavin adenindinükleotid (FAD) ve tiamin pirofosfat (TPP) ihtiva etmektedir.
3. Fosfat tampon solüsyonu: Magnezyum klorür (MgCl_2) ve N-etil- N-2-hidroksietil-3-toludin içerir.
4. Aqueous solüsyonda deterjan
5. Lyofilize standart serum (1 ml, % 82)

Prensip: Glikozid bağla bağlı sialik asit, nöraminidaz enzimiyle hidrolize olur. Serbest N-asetil nöraminik asit (Ac Neu) açığa çıkar.

Nöraminidaz

AcNeu (bağlı tip) \longrightarrow AcNeu (serbest tip) + Aglikon

Ac Neu-aldolaz varlığında, serbest Ac Neu, N-asetil mannoz amin ve piruvata dönüşür.

AcNeu-aldolaz
AcNeu (serbest tip) ————— N-asetilmannozamin+piruvat

Piruvat, MgCl₂, Flavin adenin dinükleotid (FAD) ve Tiyamin pirofosfat (TPP) varlığında piruvat oksidaz ile asetil-fosfat, karbondioksit ve hidrojen peroksida dönüşür.

Piruvat + O₂ + Pi $\xrightarrow{\text{piruvat oksidaz}}$ asetil fosfat + CO₂ + H₂O
oluşan H₂O miktarı, serbest AcNeu'e eşittir. 4-aminoantipirin (4-AAP) ve N-etil-N-2-hidroksietil-3 toluidin (EHMT) varlığında peroksidaz tarafından absorbanası 550 nm'de ölçülen kırmızı bir boyaya çevrilir (103).

2H₂O + 4 AAP+EHMT $\xrightarrow{\text{peroksidaz}}$ Kırmızı renk

Deneyin Yapılışı:

A ve B reaktifleri 5 ml tampon çözeltiyle çözülür (stabilite +4°C'de 1 hafta veya oda sıcaklığında 24 saat-tir). Standart 1 ml distile suda çözülür (stabilite +4°C'de bir haftadır).

	Deneyin tüpü	Standart tüpü	Kör tüpü
Hasta serumu	0.02 ml	-	-
Standart serum	-	0.02 ml	-
Distile su	-	-	0.02 ml
Reaktif A solüs.	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Reaktif B solüs.	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml

iyice karıştırılır. 37°C'de 20 dakika bekletilir.

Deterjan 2 ml 2 ml 2 ml

Karıştırılır. 550 nm'de absorbans olarak kör tüpe karşı 60 dakika içinde oda ısısında okunur.

Hesaplama:

$$\text{S.A konsantrasyonu (mg/100 ml)} = \frac{\text{Deney}}{\text{Standart}} \times C$$

C= Standardın konsantrasyonu

Normal değerleri (103).

Erkeklerde: n=449

$$\bar{X}=68.9 \text{ mg/100 ml}$$

$$1\text{SD}=5.54 \text{ mg/100 ml}$$

Kadınlarda: n=96

$$\bar{X}=70.2 \text{ mg/100 ml}$$

$$1\text{SD}=3.81 \text{ mg/100 ml}$$

Total n=545

$$\bar{X}=69.1 \text{ mg/100 ml}$$

$$1\text{SD}=5.29 \text{ mg/100 ml}$$

SERÜLOPLAZMİN TAYINI

Kimyasal Maddeler:

1. 0.43 M asetat tamponu (pH=5.6)

a) 1.34 ml glasyel asetik asit

b) 26.44 gr sodyum asetat (3 H O'lu)

a+b, 1 lt'ye distile suyla tamamlanır.

2. 7.95 mM Fenilendiamin substrat eriyiği.

36 mg fenilendiamin dihidroklorür, 25 ml asetat

tamponunda çözülür.pH,0.1 N NaOH ile 5.6'ya ayarlanır.Taze hazırlanır ve ışıktan korunur.

3. 460 mM sodyum azid

3 gr sodyum azid, 100 ml distile suda çözünür.

4. 0.1 N NaOH

4 gr NaOH, 1 lt distile suda çözülür.

Prensip (Ravin metodu): Serüloplazminin enzimatik etkisiyle renksiz bir madde olan fenilendiamini mavimsi-menekşe renkli ürüne çevirmesi esasına dayanır.Serumdaki bu etki,belirli bir zamanda,deney köründe ise daha başında sodyum-azid ilavesiyle durdurulur.Oluşan renk fotometrik olarak ölçülür (67).

Deneyin Yapılışı:

	Deney tüpü	Kör tüpü
Fenilendiamin	5 ml	5 ml
Sodyum azid	-	1 ml
Hasta serumu	0.1 ml	0.1 ml

37°C'de 15 dakika bekletilir (Karanlıkta).

Sodyum azid 1 ml -

37°C'de 15 dakika bekletilir. 546 nm'de distile suya karşı absorbanlar okunur ve değerler aşağıdaki formüle uygulanır.

Hesaplama:

SP konsantrasyonu: (Deney-Deney körü)X 237(mg/100 ml)

Normal sınırları: 30-58 mg/100 ml (67).

BULGULAR

Çalışmamızda 37 Akciğer kanser olgusunun 12'si küçük hücreli, 8'i Adenokarsinoma, 8'i Squamoz cell, 3'ü büyük hücreli Akciğer kanseri, 3'ü mezotelyoma, 3'ü Bronş kanseri olup, bu hastaların en küçüğü 31, en büyüğü 68 yaşındaydı. Ortalama yaş 55.08 olan hastaların 3'ü kadın, 34'ü erkekti.

Kontrol grubu olarak alınan 17-47 yaş arasındaki 20 sağlıklı bireyin yaş ortalaması 32.4 idi. Bunlardan 14'ü kadın, 6'sı erkekti.

Histopatolojik olarak kesin kanser teşhisi konmuş hastaların Akciğer kanser tipi ve biyokimyasal sonuçları Tablo 3'te gösterilmiştir.

Kontrol grubumuzun ortalama sonuçları normal klasik sınırların içinde bulunmaktaydı (Tablo 4).

Kontrol grubunun biyokimyasal değerleri ise Tablo 2'de gösterilmiştir.

Kontrol grubu ile kanserli hasta gruplarının istatistiksel değerlendirilmesinde bağımsız iki ortalamayı test eden Student's "t" testi ve "Pearson'ın momentler çarpımı korelasyon katsayısı" yöntemi uygulandı.

Tablo 2: Kontrol Grubundan Elde Ettigimiz Deney Sonuçları

No	İsim	Yaş	Cins	ALP IU/L	S.A Mg/dl	SP mg/dl	SA/ALP	ALP/SP	SA/SP
1	B.A	42	K	17	60.4	41.99	3.55	0.41	1.44
2	M.A.	45	E	45	69.0	45.47	1.53	0.99	1.52
3	C.T.	29	E	37	64.3	37.21	1.74	0.99	1.73
4	L.E.	29	E	38	64.3	46.32	1.69	0.82	1.39
5	M.Ü.	30	K	26	64.3	55.65	2.47	0.42	1.16
6	D.Ş.	45	K	41	69.0	38.73	1.68	1.06	1.78
7	S.K.	45	K	42	69.0	29.73	1.64	1.41	2.32
8	A.Y.	27	K	51	69.0	39.32	1.35	1.30	1.76
9	N.B.	27	K	25	66.0	42.85	2.64	0.58	1.54
10	N.A.	27	K	27	69.0	40.06	2.56	0.67	1.72
11	M.K.	37	E	24	69.0	18.85	2.88	1.27	3.66
12	B.A.	39	K	49	68.7	23.7	1.41	2.07	2.90
13	M.A.	47	E	49	70.1	33.47	1.43	1.46	2.09
14	N.E.	26	K	36	68.7	44.8	1.91	0.80	1.53
15	A.U.	27	K	34	69.0	34.22	2.03	0.99	2.02
16	M.H.	18	K	54	68.7	34.21	1.27	1.58	2.01
17	M.K.	28	E	39	69.0	28.22	1.77	1.38	2.45
18	N.T.	17	K	45	69.0	28.96	1.53	1.55	2.38
19	B.İ.	27	K	36	68.7	41.1	1.91	0.88	1.67
20	S.E.	36	K	28	70.1	44.8	2.50	0.63	1.57
\bar{X}		32.4		37.15	67.77	37.48	1.97	1.07	1.93
SD		9		10.19	2.53	8.72	0.603	0.431	0.59

Tablo 3: Hasta Grubundan Elde Ettigimiz Sonuçlar

No	Isim	Yaş	Cins	ALP IU/L	S.A Mg/dl	SP mg/dl	SA/ALP	ALP/SP	SA/SP	TANI
1	K.S.	31	E	211	113.75	57.69	0.54	3.66	1.97	Ad.C
2	H.P.	53	E	132	103.5	41.10	0.78	3.21	2.52	Sg.C
3	H.I.	58	E	32	72.75	50.06	2.27	0.64	1.45	Ad.C
4	S.E.	57	E	42	100.1	66.13	2.38	0.64	1.51	S.C
5	MCD	60	E	53	72.75	73.46	1.37	0.72	0.99	S.C
6	Y.M.	51	K	42	96.67	67.27	2.30	0.62	1.44	S.C
7	D.A.	57	E	124	76.17	53.28	0.61	2.33	1.43	BrCa
8	K.Y.	62	E	78	159.17	61.39	2.04	1.27	2.59	Met.
9	A.T.	36	E	51	117.18	33.99	2.30	1.50	3.45	BrCa
10	M.E.	60	E	60	103.5	45.32	1.73	1.32	2.28	S.C
11	D.G.	32	E	92	74.09	19.85	0.81	4.64	3.73	Sg.C
12	I.A.	47	E	380	131.13	23.7	0.35	16.03	5.53	S.C
13	M.S.	59	E	104	62	43.47	0.60	2.39	1.43	Sg.C
14	D.G.	52	E	62	76.96	54.8	1.24	1.13	1.40	Ad.C
15	A.D.	63	E	99	81.22	34.32	0.82	2.89	2.37	Met.
16	M.A.	63	E	78	65.57	24.11	0.84	3.24	2.72	Ad.C
17	C.K.	68	E	198	95.49	34.22	0.48	5.79	2.79	BrCa
18	M.S.	59	E	65	72.7	38.36	1.12	1.70	1.90	S.C
19	HHA	55	E	89	61.3	41.13	0.69	2.16	1.49	S.C
20	H.S.	45	E	80	44.17	44.18	0.55	1.81	1	L.C

Tablo 3'ün Devamı

No	İsim	Yaş	Cins	ALP IU/L	S.A Mg/dl	SP mg/dl	SA/ALP	ALP/SP	SA/SP	TANI
21	P.K.	54	K	76	93.25	60	1.23	1.27	1.55	Met.
22	E.T.	52	E	28	130.8	50.58	4.67	0.55	2.59	L.C
23	A.T.	61	E	80	82.0	37.4	1.03	2.14	2.19	S.C
24	İ.K.	62	E	103	58.83	36.36	0.58	2.83	1.65	S.C
25	M.Y.	59	E	63	82.5	44.80	1.31	1.41	1.84	Sg.C
26	B.S.	62	E	73	75.17	57.17	1.03	1.28	1.32	Ad.C
27	M.D.	48	E	42	68.33	24.53	1.63	1.71	2.79	Sg.C
28	H.S.	64	E	145	130.83	69.02	0.90	2.10	1.90	S.C
29	MKB	67	E	47	72.14	22.14	1.54	2.12	3.26	Ad.C
30	H.K.	57	E	73	92.25	69.83	1.26	0.05	1.32	Ad.C
31	A.A.	51	E	69	89.13	46.36	1.29	1.49	1.92	Ad.C
32	M.D.	62	E	74	71.30	34.51	0.96	2.14	2.07	Sg.C
33	M.İ.	63	E	58	110.52	54.28	1.91	1.07	2.04	Sg.C
34	A.A.	65	E	58	99.83	56.65	1.72	1.02	1.76	Sg.C
35	H.Y.	37	E	63	92.13	26.69	1.46	2.36	3.45	S.C
36	A.Ö.	55	K	74	82	26.39	1.11	2.8	3.11	S.C
37	Y.P.	51	E	98	86.82	50.65	0.89	1.94	1.71	L.C
\bar{X}		55.08		89.08	89.16	45.28	1.307	2.32	2.18	
SD		9.3		63.19	23.87	14.94	0.802	2.59	0.91	

Not: Tanı da kullanılan kısaltmalar;

S.C : Küçük hücreli Akciğer kanseri

L.C : Büyük hücreli Akciğer kanseri

Sg.C: Squamoz hücre kanseri

Met : Mezotelyoma

Ad.C: Adenokarsinom

Tablo 4: Kontrol Grubu Sonuçlarının Klasik Sınırlarla Karşılaştırılması

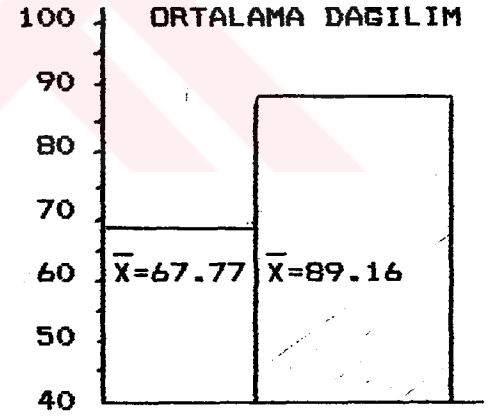
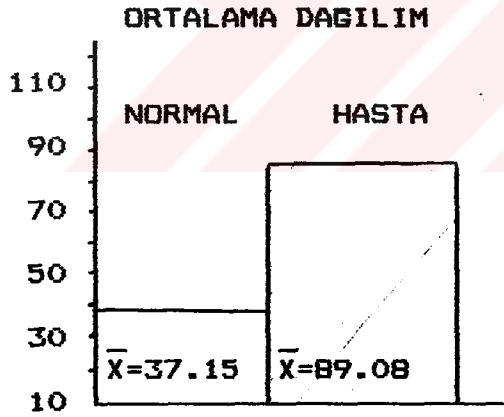
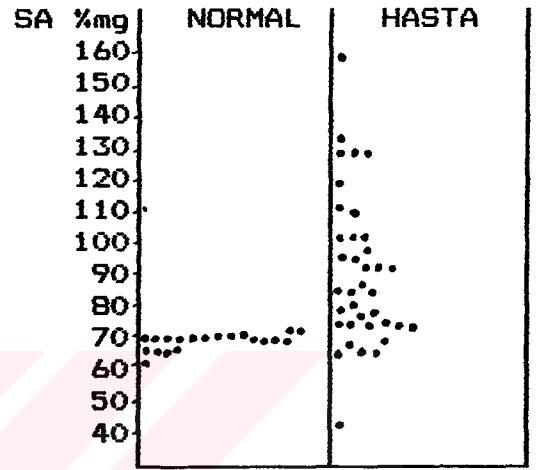
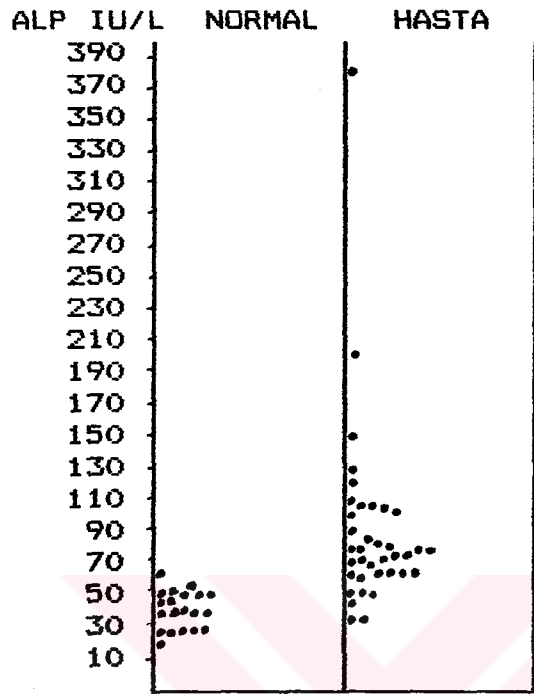
	ALP IU/L	S.A mg/dl	SP mg/dl
Kontrol grubu \bar{X}	37.15	67.77	37.48
Klasik normal sınırlar	20-90	69.1±5.29	30-58

Tablo 5: Kontrol Grubu ile Hasta Grubunda Değişken Ortalamaları, Standart Sapma Değerleri ve İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları

Değişken	Kontrol		Hasta		t	P
	\bar{X}	± SD	\bar{X}	± SD		
ALP	37.15	10.19	89.08	63.19	4.883	P<0.001
S.A	67.77	2.53	89.16	23.87	5.395	P<0.001
SP	37.48	8.72	45.28	14.94	2.487	P<0.05
SA/ALP	1.97	0.603	1.307	0.802	3.516	P<0.001
ALP/SP	1.07	0.431	2.32	2.59	2.882	P<0.01
SA/SP	1.93	0.59	2.18	0.91	1.220	P>0.05

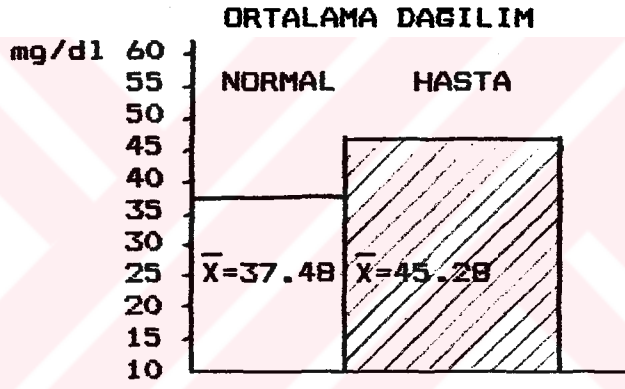
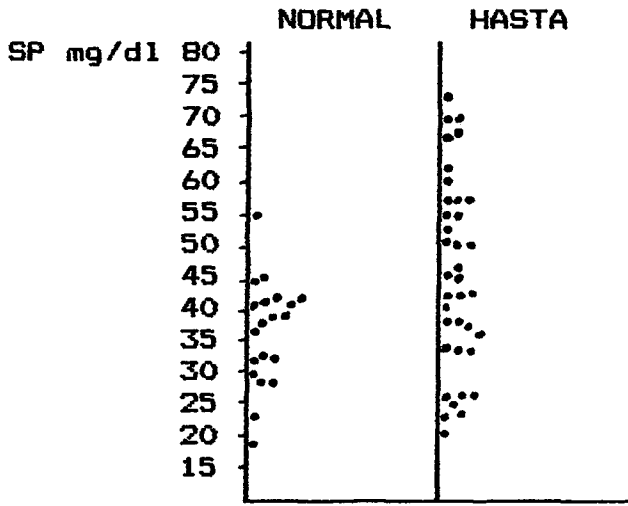
Tablo 6: 37 Hastada Değişkenler Arasındaki Korelasyon Katsayıları ve Önemlilik Düzeyleri

1. Değişken	2. Değişken	r	t	P
ALP	S.A	0.30	1.861	P>0.05
ALP	SP	-0.19	1.145	P>0.05
SP	S.A	0.31	1.929	P>0.05



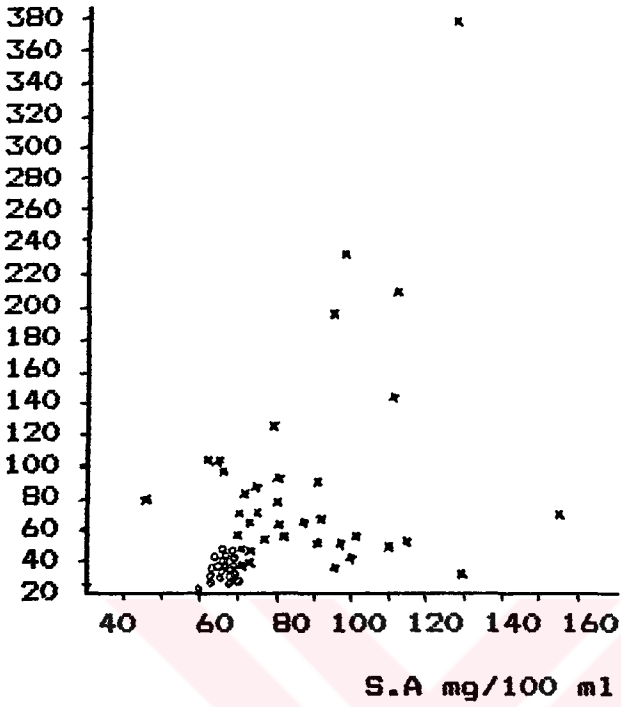
Şekil 8:ALP'in normal kişiler ve akciğer kanserli hastalardaki dağılımı

Şekil 9:Sialik asidin akciğer kanserli ve normal kişilerde dağılımı



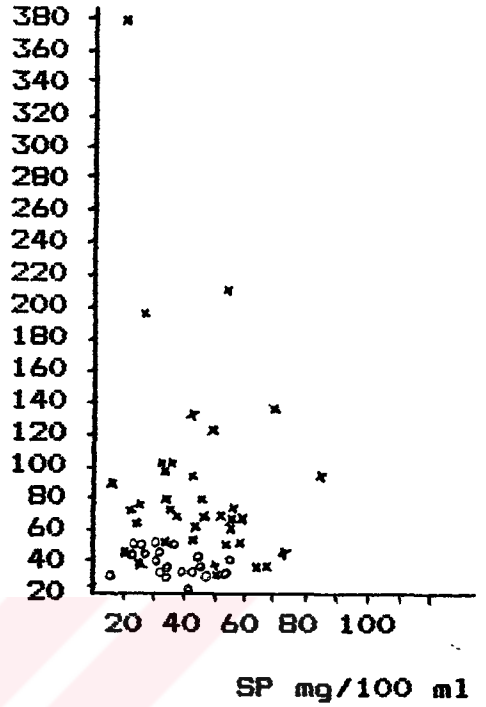
Şekil 10: Serüloplazmin'in normal ve hastalardaki dağılımı

ALP IU/L



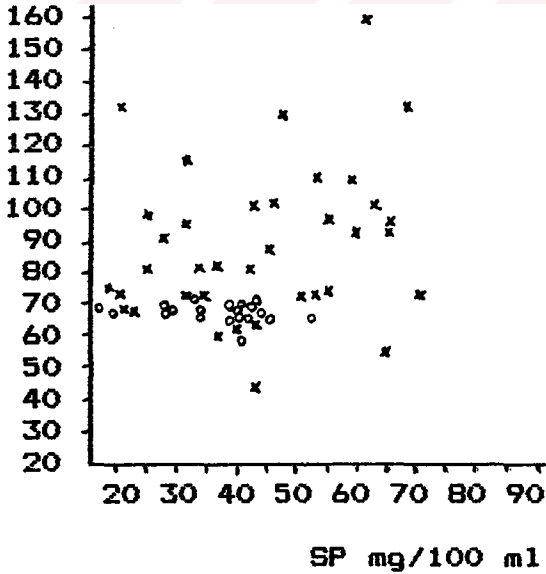
Şekil 11: Serum total ALP ve S.A'nın birbirine göre dağılımı

ALP IU/L



Şekil 12: Serum total ALP ve SP'nin birbirine göre dağılımı

S.A mg/100 ml



x : Hasta grubu
o : Kontrol grubu

Şekil 13: Serum S.A'e göre SP'in dağılımı

SONUÇLAR

Akciğer kanserli olgularımızda elde edilen biyokimyasal bulgular değerlendirilerek şu sonuçlara varılmıştır.

1-ALKALEN FOSFATAZ DÜZEYLERİ: Akciğer kanserli grubumuzda ALP düzeyleri en az 28 IU/L en fazla 380 IU/L ($\bar{X}=89.08$) arasında dağılım gösterirken (Tablo 3), sağlıklı kişilerde bu dağılım 17-57 IU/L ($\bar{X}=37.15$) arasındaydı (Tablo 2) (Şekil 8).

Akciğer kanserli grubumuzun ALP düzeyleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artış görüldü ($P<0.001$) (Tablo 5).

2-SIALİK ASİT DÜZEYLERİ: Akciğer kanserli hastalarda sialik asit en az 44.17 mg/100 ml, en fazla 159 mg/100 ml ($\bar{X}=89.16$ mg/dl) arasında dağılırken (Tablo 3), sağlıklı grubumuzda 60.4-70.1 mg/dl ($\bar{X}=67.77$) arasında dağılım gösterdi (Tablo 2) (Şekil 9).

Akciğer kanserli hastalardaki sialik asit düzeyleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir artış gözlemlendi ($P<0.001$) (Tablo 5).

3-SERÜLOPLAZMİN DÜZEYLERİ: Akciğer kanserli hasta grubumuzda serüloplazmin düzeyleri en az 22.14 mg/dl, en fazla 73.46 mg/dl ($\bar{X}=45.28$) arasında değişimi gösterirken (Tablo 3), kontrol grubumuzda en az 18.85 mg/dl, en fazla 55.65 mg/dl ($\bar{X}=37.48$) arasında değişim gözlemlendi (Tablo 2) (Şekil 10).

Akciğer kanserli hastalardaki serüloplazmin düzey-

leri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artış görüldü ($P < 0.05$) (Tablo 5).

4-SIALİK ASİT/ALKALEN FOSFATAZ ORANI: Akciğer kanserli hastalarda S.A/ALP düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir azalma görüldü. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.001$) (Tablo 5).

5-ALKALEN FOSFATAZ/SERÜLOPLAZMIN ORANI: Akciğer kanserli hastalarda ALP/SP düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir artma görüldü. Bu artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.01$) (Tablo 5).

6-SIALİK ASİT/SERÜLOPLAZMIN ORANI: Akciğer kanserli hastalarda S.A/SP düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldı ve önemli bir fark gözlenmedi ($P > 0.05$) (Tablo 5).

ALP-SA, ALP-SP ve SA-SP'nin dağılım grafikleri sırasıyla şekil 11, şekil 12, şekil 13'de gösterilmektedir.

Akciğer kanserli hastalarımızdan elde edilen biyokimyasal bulgular arasındaki korelasyon katsayıları değerlendirildiğinde şu sonuçlara varılmıştır.

1-Alkale fosfatase ve sialik asit arasındaki % 30 oranındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$) (Tablo 6).

2-Alkale fosfatase ve serüloplazmin arasında hesaplanan %19 oranında ters yöndeki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$) (Tablo 6).

3-Serüloplazmin ve sialik asit arasında hesaplanan % 31 oranındaki ilişki istatistiksel olarak önemli değildir ($P > 0.05$) (Tablo 6).

TARTIŞMA

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi Akciğer kanserlerinde erken tanıya erişmek kolay olmamaktadır. Akciğer kanserli hastaların yaklaşık % 5'inde hiç bir belirti görülmeyebilir. Ayrıca kanserin akciğerde histopatolojik olarak başlaması ile klinik olarak kendini belli etmesi arasında tümörün histolojik yapısına, bazen metastazlarına ve akciğer içinde sebep olduğu sekonder enfeksiyonlara göre değişmek üzere aylar ve bazen seneler geçebilir.

Çeşitli etkenlerle oluşan Akciğer hastalıklarının ayırıcı tanısı, uygulanacak tedavinin seçimi ve hasta iyileşmesi yönünden önem taşımaktadır. Ayrıca malign karakterli Akciğer hastalıklarında tanı ne derece erken konursa tedavide başarı şansı o kadar artacaktır. Bir başka açıdan vücudun oksijen gereksinimini sağlamakla görevli ve fizyolojik yük altında bulunan akciğerleri fazla zorlamadan tanı konulması ayrıca önem kazanmaktadır (74).

O halde Akciğer kanserlerinin bir preklirik safhası bulunmaktadır. Bu safhada bazı biyokimyasal değişikliklerin olduğu çeşitli deneylerle görülmüştür. Bir çok kanser tanısında biyokimyasal tetkiklerin değeri inkar edilemez.

Biz de yaptığımız bu çalışmada kesin tanısı histopatolojik olarak konmuş 37 Akciğer kanserli olan hastada serum total ALP, sialik asit, serüloplazmin düzeylerindeki değişiklikleri ve bu parametrelerin tanıda ne derece faydalı olabileceğini araştırmayı amaçladık.

ALKALEN FOSFATAZ (ALP)

Son yıllarda malign hastalıkların tanısında çeşitli "Marker" lar araştırma konusu olmuştur. Bunlar arasında çeşitli hormonlar ve hormon reseptörleri, immünooglobulinler, onkofötal antijenler ve enzimler sayılabilir. Enzimler grubunda, Alkaleen fosfataz önemli bir yer tutmaktadır. Bilindiği gibi tümör hücrelerinin golgi kompleksinde ER'ünde ve özellikle hücre membranında ALP depolanması artmaktadır. Zamanla hızla gelişen tümör dokusu etraftaki normal dokuyuda harabetmekte ve membran enzimi olan ALP tümörün civarında ekstrasellüler ortamda artmaktadır (74,86).

Malignansilerde plasental ALP (PAP), plasentaya benzeyen ALP (PLAP) ve intestinal ALP'lara rastlanmıştır. Bu durum ilgili dokudaki artmış gen ekspresyonuna bağlanmaktadır. Akciğer kanserinde de PAP ve PLAP görülmüştür. Normal Akciğerde zaten atopik olarak çok az miktarda bu enzimlere rastlanmıştır.

Hamile olmayan normal sıhhatli birisinde PLAP'ın bulunması bir malignansiyi ifade edebilen kuvvetli bir delildir. Fakat sigara içme gibi faktörlerle PLAP'da hafif bir artış görülmektedir. Sigara içenlerde yapılan bir araştırmada yüksek PLAP ve yüksek karsino embriyonik antijen (CEA)'e rastlanması, bu izoenzimin gerçekten akciğerden salgılandığını göstermiştir (82).

PAP ve PLAP'ın klinikte teşhis aracı olarak kullanımları, bir CEA ve alfa-fetoprotein kadar yaygın değildir.

Çünkü PAP ve PLAP'ın Akciğer kanserlerinin bir kısmında gözlenmemektedir (63,82).

Gonad kanserleri dışında diğer neoplazilerde plasental ve PLAP'ın insidansı % 10 ile % 25 arasında değişmektedir. Fakat PLAP izoenziminin gonodal tümörlerde, seminoma ve over tümörlerinde anlamlı düzeyde yükseldiği bulunmuştur (47,63).

ALP'ın sağlıklı bir kişinin normal dokusunda görülmeyen veya çok az görülen, ancak malign hallerde bir tümörün bu normal dokudan menşeyini aldığı zaman ALP'ın anlamlı derecede yükselmesinin sebebi halen karanlıktır. Çeşitli tip tümörlerde değişik sebeplerin olması çok muhtemeldir. Bazı hallerde malign prosesler bir hücrede, normalde ifade edilemeyen bir ALP genini harekete geçirip ALP sentezini arttırabilirler veya çok az sentez edilen ALP'ın aktivitesini yükseltirler.

Daha başka durumlarda ise tümör normal doku içinde düzensiz Clonal Proliferasyonuna sebep olabilir ve bu hücreler aynı doku içindeki diğer hücrelere göre bu özel ALP'ı daha çok salgırlar, bu ihtimal seminomada rastlanılan PLAP için uygun bir açıklamadır. Fakat daha çok çalışmalar gerekmektedir (39).

Tümöral hücrelerin embriyonik ve fetal genlerin aktivasyonu sonucu, yalnız fetal dokulardan sentez edilebilen proteinler sentez ettikleri ötedenberi bilinmektedir. Gold tarafından bulunan karsino embriyonik antijen ve Tatarinov tarafından bildirilen alfa-fetoprotein tümörler

tarafından sentez edilen f3tal maddelerdir (34).Bu tip, f3tal hayatta sentez edilen proteinlerin daha sonra kanserli dokularda tekrar ifade edilmelerinin sebebi yoğun araştırmalara konu olmaktadır.Ancak ısıya dayanıklı olmaları,enzim proteininin normalde basit polipeptid zincirinden oluştuğu ihtimalini kuvvetlendirmektedir.Zira y3ksek molek3ler ağırlıklı oligomerik kompleks enzimlerin ısıya karşı daha hassas oldukları,daha çabuk denat3re oldukları g3zlenmiştir.

ALP sentezi esnasında translasyon sonrası bazı değişiklikler olmaktadır ve ALP'lara çeşitli karbonhidrat 3niteleri eklenmektedir.Bunların içerisinde sialik asitte bulunmaktadır.3rneğin hepatomada g3r3len kasahara izoenzimi (KI) olarak bilinen FL-AP'ının intestinal ALP'ın modifikasyonu ile (yani karbonhidrat eklerinin değişmesi ile) oluşabileceği ileri s3r3lm3řt3r.Bu modifikasyonlar için ALP'lara ekstra sialik asit artıklarının ilavesi de girer.Muhtemelen bu durum kanserli h3crelerde sialil transferaz aktivitesi artışı ile ilgilidir.Fakat b3t3n fark bumudur ? ALP'lar arasındaki kalıcı farklılık basit bir yan K.H zincirine bağlanabilirmi ?

Yukarıdaki g3r3şlerin ışığında bizde bulgularımızı toplarlarsak,ALP'ların hasta grubunda 3nemli artış kaydettiğini ve akciğer kanserli hastalarda literat3re uyumlu olduğunu tesbit etmiş bulunmaktayız (86).

20 kişilik kontrol grubunda serum total ALP düzeyi \bar{X} :37.15±10.19 IU/L, 37 kişilik hasta grubunda tALP düzeyi \bar{X} :89.08±63.19 IU/L bulundu (Tablo 5).

İki grupta elde ettiğimiz düzeyler arasındaki fark önemli bulundu (P<0.001).

37 vakanın 11'inde (% 29.7'sinde) normal klasik sınırların üzerinde ALP seviyesi gözlemlendi.

ALP için normal seviye 20-90 IU/L idi (Tablo 4).

Şurası muhakkaktırki serum ALP'ı bir çok dokudan seruma dökülmektedir.Kanserli bir dokudan gelen o dokuya ait izoenzim total ALP'ı önemli derecede yükseltmeyebilir. Bu yüzden bu tip çalışmalarda total ALP yanında izoenzim çalışmaları ve ALP elektroforezi gerekmektedir.Total ALP yanında kanserli dokuya ait izoenzimin mevcudiyeti gösterilebilirse yeterli bir ipucu elde edilmiş olabilir.

Ancak serum dışında özellikle kanserli dokunun yakınında elde edilen sıvılardaki ALP düzeylerinin,kandaki ALP düzeylerinden oldukça fazla olduğu yapılan araştırmalarla gösterilmiştir (74).

Büyüyen ve genişleyen tümör dokusu normal akciğer dokusunu harap etmekte ve bu nedenle bir membran enzimi olan ALP tümör yakınında ekstrasellüler ortamda artmaktadır. Tümör yakınındaki ekstrasellüler ortamdan alınan örneklerde ALP aktivitesi seruma göre daha yüksek çıkmaktadır (86).

Fishman metastatik bronkojenik karsinomali 30 hasta

üzerinde yaptığı incelemede bronkoskopik lavaj sıvısında ALP aktivitesinin devamlı yükseldiğini göstermiştir(74,86).

Seber tarafından yapılan bir çalışmada akciğer kanserli hastalardan alınan bronş lavaj sıvısında ALP değerlerini normallere göre anlamlı,yüksek bulmuştur. Serum ALP değerlerinin ise anlamlı olmadığını bulmuştur (74).

SIALİK ASİT (S.A)

Çalışmamızın amaçlarından biri de kanserde artış gösteren ALP ile sialik asit düzeyleri arasındaki ilgiyi saptamaktı. Sialik asit düzeyleri de hasta grubunda, kontrollere oranla önemli bulundu.Ancak istatistiksel olarak sialik asit ile total ALP arasındaki korelasyon katsayısı önemsiz bulundu. ALP'lar glikoprotein yapısında olan ve yapılarında sialik asit taşıyan enzim proteinleridir (1). Kanserli dokuda ALP enziminin depolanmasına sebep olan şey nedir ?

Kanserli dokularda sialil transferaz enziminin artışı ve bu artışla ilgili olarak ALP enzimlerine, ekstra sialik asitlerin girdiği gözlenmiştir (1).ALP enzimlerinin sialik asit'te dahil diğer karbonhidrat eklerinin hangi durumlarda enzimden koştugu veya hangi durumlarda enzime ilave edildiği bilinmemektedir.Fakat kanımızca karbonhidrat eklerinin üzerindeki araştırmalar sonucu sialik asit artıkları ile ALP enzimi arasındaki ilişki çözülecektir. ALP enzimlerine ekstra sialik asit artıklarının girmesi

ile enzim aktiviteleri üzerindeki ne gibi değişikler olabileceği o zaman çözüme kavuşacaktır ve yine ALP'ların artış sebepleri (Enzim sentezinin artışından veya enzim aktivitesinin artışından veya kanserde hızlı çoğalmadan ötürü membran harabiyeti) belki gün ışığına çıkabilecektir.

1948'de Winzler, 1971'de Skipski ve arkadaşları kanserli hastalarda normal yetişkin değerininin iki katına kadar yükselen sialik asit düzeyleri bildirmişlerdir. Daha sonra Winzler ve arkadaşları nonneoplastik ve inflamatuvar hastalıklarda da sialik asit değerlerinin yükseldiğini saptamışlardır.

Sialik asidin insan ve hayvan vücudunda, glikoproteinlerin, gangliyositlerin ve az miktarda türev oligo ve polisakkaritlerin içinde yer aldığı, bunun dışında CMP-sialik asit ve serbest sialik asit halinde bulunduğu da bildirilmiştir (72,89).

Kanserde hücre yüzeyi ve membran komponentlerinin çok önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Bu yüzden hücre zarında mevcut bazı glikoproteinler ve glikolipitlerin ve bilhassa bunların yapısında çok fazla yer alan sialik asidin tümör göstergesi olarak kullanılabilceği anlaşılmıştır (5,12,70,71).

Malign hücre yüzeyinde sialik asit artışı bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Hatta kanserde sialik asit seviyesinin, hastalığın safhaları ile de ilgili olduğu bulunmuştur. Yine metastazın seviyesi ile sialik asit sevi-

yesinin alakalı olduğu gözlenmiştir.Sialik asidin hemen hemen bir çok kanser tiplerinde faydalı bir tümör markeri olduğu gösterilmiştir (12,23,70).

Son yıllarda tümör hücrelerinin kendilerine özgü yapısal ürünleri arasında önemli bir yer tutan lipide bağlı sialik asit (LSA) düzeylerinin saptanması ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır.Bilindiği gibi serum total sialik asidin 1/3 oranı proteine bağlı, 2/3 oranında lipide bağlı sialik asit oluşturmaktadır (50,73).

LSA ihtiva eden gangliyositler tümör membranında biriktirilir.Bunlar zamanla hızla gelişen tümör civarındaki ekstrasellüler ortamda ve serumda artabilmektedirler.Malign hücrelerde çok değişik türde gangliyositler sentez edilmektedir.Ve bu çeşitli türdeki gangliyositlerin hemen tümünde yüksek oranlarda LSA mevcuttur (50).

Bunun içindirki gerek tümör dokusu civarından elde edilen örneklerden,gerekse serumdaki düzeylerinin saptanmasından organizmadaki tümörün varlığı yönünden çok önemli kanıtlar elde edilebilmektedir.Yapılan kaynak taramasında, son yıllarda mide,kolon,meme,akciğer kanserlerinde,malign melanoma, lösemi ve lenfomalarda LSA düzeylerinin diğer kanser vakalarına göre çok daha anlamlı olarak serumda arttığı bildirilmiştir (50,73,75).

Bronş kanserleri ve kanser olmayan akciğer hastalıklarında bronş lavaj sıvısında ve serumda lipide bağlı sialik asidi tayin eden Seber'in çalışması; bronş lavaj sıvısında LSA değerlerinin serum LSA değerlerine göre

bronş kanseri tanısı için özgül bir nitelik taşıdığını göstermiştir.

Bu da gösteriyorki bronkoskopi endikasyonu konan ve özellikle kanserden kuşkulanan her olgunun bronş lavaj sıvısında LSA düzeyi saptanması kanser tanısını desteklemede oldukça ümit verici bir laboratuvar yöntemi olabileceği kanısını uyandırmaktadır.

Bayındır ve arkadaşları bronş kanserlerinde hem bronko alveol lavaj sıvısı hem de serumda LSA değerlerini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (9).

Hogan ve arkadaşları meme kanseri olan olgularda yaptıkları çalışmalarda, serum LSA düzeylerinin tümörün yaygınlığı nisbetinde yükseldiğini gözlemişlerdir (46,73). Yine aynı konuda çalışan Dinistriani ve çalışma grubunun yaptıkları çalışmada 106 benign meme hastasının % 13'ünde, erken dönemde saptanan 64 meme kanserinin %47'sinde, 61 yaygın metastazlı meme kanserinin %62'sinde yüksek değerlerde LSA serum düzeyi saptandığını bildirmişlerdir (20,22,73).

Shamberger ve arkadaşları da yaptıkları geniş bir çalışmada 29 değişik tipte kanser çeşidi içeren 112 hasta, 110 normal, 100 kanser dışı çeşitli hastalıklara sahip hastalarda, özellikle kanserli grupta yüksek serum LSA düzeyleri saptanmanın yanısıra psoriyazis, chron's hastalığı ve artritiste yüksek LSA düzeyleri elde edildiğini rapor etmişlerdir (76,77).

Erbil ve arkadaşları yaptıkları iki ayrı çalışmada kolon ve akciğer kanserlerinde serum LSA düzeylerini yük-

sek bulduklarını bildirmişlerdir (25).

Ülgenalp, kadın genital kanserlerinde LSA seviyelerini yüksek bulmuş, operasyonla tümör çıkarıldıktan sonra LSA seviyelerinin azaldığını, kemoterapi ve ışınlama anında ise LSA seviyelerinin yüksek olduğunu göstermiştir. Tedavi sırasındaki yüksekliği, ölen tümör hücrelerinde bu maddelerin kana yayılması ile açıklayabilmiş ve LSA tayininin tümörün tam çıkarılıp çıkarılmadığının anlaşılmasına, metastaz varlığının veya nükslerin öğrenilmesine yardımcı olabileceği gibi, tedavi anında LSA düzeylerinin artması ile de tedavi yönteminin etkinliği hakkında bilgi verecek nitelikte olabileceğini ileri sürmüştür (88).

Dwivedi ve arkadaşları çok değişik kanser gruplarında yaptıkları araştırmada total sialik asit değerlerinin akciğer kanserinde % 77.3 oranında hassas olduğunu, göğüs kanserinde ise % 14.1 hassasiyet taşıdığını göstermişlerdir (23).

Dwivedi ve arkadaşlarının 1989'da yaptıkları çalışmada ise yine çok çeşitli tümör grupları arasında LSA düzeylerini ölçmüşler ve yine akciğer kanserinde LSA'nın fev-kalede prognostik ehemmiyeti olduğunu göstermişlerdir (22).

Bizim bulgularımıza gelince akciğer kanserli 37 vakanın; kontrol ortalamasının $\bar{X} + 1 SD$ üzerindeki vaka sayısı ($\bar{X}=67.77 \pm 2.53$), 25 idi. Yani % 67.6'sında yüksek bulundu.

Kontrol grubu ile aradaki fark istatistikî olarak önemli bulundu. Kontrol grubu için $\bar{X}=67.77\pm 2.53$, hasta grubu için $\bar{X}=89.16\pm 23.87$ idi ($P<0.001$).

Bu bulgu literatürlerle uyum içinde idi (Tablo 5).

ALP ile sialik asit arasında bir korelasyon saptanmadı. Yani her iki parametrenin yüksek olduğu vakalar bulunduğu gibi bir parametrenin yükselip, diğer parametrenin normal olduğu durumlarda gözlemlendi. Total sialik asidin, total ALP'a göre daha çok vakada arttığı gözlemlendi.

Total Sialik Asit

Total ALP

oranı ise kontrol grubuna göre

oldukça önemli bulundu ($P<0.001$).

Hasta grubunda SA/ALP : $\bar{X}=1.307\pm 0.802$

Kontrol grubunda SA/ALP: $\bar{X}=1.97\pm 0.603$ olarak

tesbit edildi. 37 vakanın 31'inde bu oran kontrol grubuna göre düşük bulundu (% 83.8). Bu oran, tek başına ALP ve sialik aside göre daha anlamlı olacağı ortaya çıkmış bulunmaktadır.

Akciğer kanserinde bu oran; tanı, prognoz, tedaviye cevap verip vermeme gibi durumların incelenmesinde faydalı bir test olabilir.

SERÜLOPLAZMİN (SP)

Serüloplazmin plazmada non toksik bakır deposu görevi gören bir proteindir. Serum bakırındaki artışlar ve azalmalar genelde serüloplazmindeki artış ve azalmalara paraleldir (27).

Serüloplazmin klinik açıdan akut faz proteini olarak ilgi çekmiştir ve çeşitli hastalıklarda seviyesi incelenmiştir. Bir çok organik bileşiğin O₂ ile spontan oksidasyonu sonucu hayat için tehlikeli maddeler oluşur. Bu durum serüloplazminle önlenir. Serüloplazmin lipid peroksidasyonunu ve inflamasyonda serbest radikal oluşumunu önler. Akut faz reaktanı olarak muhtemel görevinde buradan ileri gelmektedir (69,85,90).

Biyolojik sistemlerde, oksidatif stress hallerine karşılık, protektif mekanizmanın bir cevabı olarak antioksidan amaçla artan serüloplazmin değişik hastalıkların aktivitesinin belirlenmesinde bir test olarak kullanılmaktadır (101).

Serüloplazmin seviyesi malign veya malign olmayan bir çok hastalıkta artmaktadır (78).

Ayrıca araştırmacılar serum serüloplazmin düzeylerinin bir çok malign hastalıkların ayırıcı tanısında rol oynadığını belirtmişlerdir (54).

Shifrine, primer veya metastatik osteosarkomlu hastalarda yüksek serum serüloplazmin düzeylerinin ayırıcı tanıda ve tedavinin etkinliği konusunda değer taşıdığını göstermiştir (54,78).

Ungar ve arkadaşları serum serüloplazmin düzeylerinin malign proses aktivitesi hakkında güvenilir bir bulgu olduğunu iddia etmişlerdir (54,87).

Bayındır ve arkadaşları kronik ve akut lenfositer lösemide serum serüloplazmin düzeylerini anlamlı olarak

yüksek bulmuşlardır.Hodgkin's hastalığında ise istatistiki olmamakla beraber hafif bir artış göstermişlerdir (53,54, 72,85).

Malign hastalıklarda serum serüloplazmin aktivitesinin artmasının fizyopatolojik mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Malign prosesin sürecinde serum serüloplazmin düzeyi normalin 4-8 katına yükseldiği,tümörün regresyonu ile serüloplazmin düzeyinin normale indiği,hatta metastaz geliştiğinde serum serüloplazmin düzeylerinin yüksek kaldığı bildirilmiştir (53,85).

Malign hastalıklarda,hümorale faktörler veya tümör hücrelerinin yıkım ürünlerinin stimülasyonu ile karaciğerde serüloplazmin sentezinin artmış olabileceği bildirilmiştir (69,85).

Poukkula ve arkadaşları 199 akciğer kanserli ve 81 nonmalign akciğer hastalığı olan kişilerde serum Cu,Zn ve serüloplazmin düzeylerini ölçmüşlerdir.Sonuçta bu parametrelerin malign hadiseleri nonmalign hadiselerden ayırımında önemli olmadığını göstermişlerdir.Ancak bu parametrelerin hastalığın yaygınlığı ile ve akciğer kanserli olgularda ise hastalığın prognozunu saptanmasında bir dereceye kadar sınırlı bir önemi olduğunu görmüşlerdir (66).

Linder ve arkadaşları ise malign ve malign olmayan akciğer hastalıklarında yaptıkları araştırma sonucu akciğer kanserli vakalarda daha yüksek serüloplazmin değerini saptamışlardır.Ayrıca aynı araştırıcı kanserde en

kötü prognoz gösteren hastalarda en yüksek serüloplazmin değerini gözlemiştir (66,78,85).

Bizim çalışmamızda serum serüloplazmin düzeyleri kontrol grubunda ortalama 37.48 ± 8.72 mg/100 ml, akciğer kanserli grupta ortalama 45.28 ± 14.94 mg/100 ml bulundu. Bu değer normal sınırlar içinde olmasına rağmen (30-58 mg/100 ml) iki grupta elde edilen düzeyler karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı olduğu saptandı ($P < 0.05$) (Tablo 5).

ALP ile serüloplazmin ve serüloplazmin ile sialik asit arasında bir korelasyon saptanamadı (Tablo 6).

Total ALP

—————
Serüloplazmin

oranı kontrol grubuna göre oldukça

önemli bulundu ($P < 0.01$) (Tablo 5).

Kontrol grubunda ALP/SP: $\bar{X} = 1.066 \pm 0.43$

Hasta grubunda ALP/SP: $\bar{X} = 2.324 \pm 2.59$ olarak tesbit

edildi. 37 vakanın 30'unda (% 81) bu oran kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Bu oranın tekbaşına ALP ve serüloplazmine göre daha anlamlı olacağı ortaya çıkmıştır.

Sialik Asit

—————
Serüloplazmin

oranı ise kontrol grubuna göre önemli

bulunmadı ($P > 0.05$) (Tablo 5).

Serüloplazminin çeşitli hastalıklarda bir cevap olarak sentezlendiği bilinmektedir. Aynı zamanda sialik asitte hastalıklara ve inflamasyona karşı organizmanın cevabı olarak artmaktadır (72). Ayrıca ALP ve serüloplazmi-

nin yapılarında sialik asit bulunmaktadır.Sialik asit taşıdıklarından dolayı,kanserde her üçünün artabilme ihtimalinden yola çıkarak,planladığımız bu çalışmada bu parametrelerin belirli oranlarda artmış olduğunu gözlemleyiz.

Araştırmamızda elde edilen veriler ve literatürdeki bilgiler doğrultusunda sonuç olarak;

1- Akciğer kanserlerinin tanısında ve tedavi sonuçlarının kontrolünde serum ALP, sialik asit ($P<0.001$) ve serüloplazmin değerlerinin ($P<0.05$) önemli olduğu saptandı. SA/ALP ($P<0.001$), ALP/SP ($P<0.01$) daha önemli bulundu. Bu oranların saptanmasının akciğer kanserlerinin tanısında ve tedavi etkinliklerinin belirlenmesinde faydalı olabileceği kanısı belirdi.

2-Total ALP ölçümünün yanısıra, ayrıca izoenzim çalışması gereklidir.

3-Total sialik asit yanında lipide bağlı sialik asit (LSA) ölçülmesi ve bunun ALP ile oranı (LSA/ALP) daha uygun bir tanı testi olarak kullanılabilir.

O halde akciğer kanserli hastaların tanı ve tedavisinin takibinde çabuk, kolay ve pratik olmaları yönünden biyokimyasal tetkiklerden de büyük ölçüde yararlanılabileceği söylenebilir.

ÖZET

Akciğer kanseri,Dünya'da ve Türkiye'de çok önemli onkolojik sorunlar meydana getirmektedir.Bu hastalıkların tanı ve takibinde biyokimyasal incelemelerin yeri inkar edilemez.

Son yıllarda malign hastalıkların tanısında çeşitli "Marker"ler araştırma konusu olmuştur.Bunlar arasında alkalin fosfataz,sialik asit ve serüloplazmin de bulunmaktadır.Bilindiği gibi tümör hücrelerinin golgi kompleksinde, endoplazmik retikulumlarında ve özellikle hücre membranlarında alkalin fosfataz depolanması artmaktadır. Zamanla hızla gelişen tümör dokusu etrafındaki normal dokuyu da harap etmekte ve membran enzimi olan alkalin fosfataz tümörün civarında ekstrasellüler ortamda ve serumda artmaktadır.

Kanser hücresinin yüzeyi bir çok bakımlardan normal hücrelerden farklılık gösterir.Bir çok hücre tipindeki neoplastik transformasyonlar membran glikoproteinlerinin bileşimindeki değişikliklerle ilgilidir.Membran glikoproteinleri hücre yüzeyinin ana yapısal komponentleridir.Bu durumda hücre yüzeyindeki sialik asit seviyeleride değişmektedir.

Karbonhidrat taşıyan moleküllerin,normal fonksiyonlarını kaybeden hücrelerden açığa çıkması,serum total ve lipide bağlı sialik asit seviyelerinin incelenmesi üzerine dikkatleri çekmektedir.

Serüloplazmin, ferröz demir (Fe^{+2}) ve aromatik diaminler gibi çeşitli substratlara karşı oksidaz aktivitesi gösteren bir akut faz proteindir. Oluşan herhangi bir doku hasarına karşılık karaciğerde sentezlenir ve dolaşıma verilir.

Elde edilen bu bilgilerin ışığı altında akciğer kanserli 37 hastada serum alkalin fosfataz, sialik asit ve serüloplazminin tümör göstergesi olarak değerleri araştırıldı. Ve kontrol grubu olarak seçilen 20 normal kişinin serum alkalin fosfataz, sialik asit ve serüloplazmin değerleri ile kıyaslandı. Serum total alkalin fosfataz, sialik asit, serüloplazmin düzeylerinin ortalaması sırasıyla 89.08 ± 63.19 IU/L, 89.16 ± 23.87 mg/dl, 45.28 ± 14.94 mg/dl olarak bulundu. Serum S.A/ALP, ALP/SP, S.A/SP oranlarının ortalama değerleri ise sırasıyla, 1.307 ± 0.802 , 2.32 ± 2.59 , 2.18 ± 0.91 olarak bulundu. Serum ALP, sialik asit, serüloplazmin, S.A/ALP ve ALP/SP düzeylerindeki artışlar kontrol grubundaki düzeylerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı, önemli olduğu görüldü ($P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$).

Araştırmamızda elde edilen veriler ve literatürdeki bilgiler doğrultusunda serum ALP, S.A, SP ve özellikle S.A/ALP ve ALP/SP oranlarının saptanmasının akciğer kanserlerinin tanı ve takibinde önemli olduğu hatta tanı için faydalı yardımcı bir test olabileceği belirlendi.

SUMMARY

Lung carcinomas are the most important oncological problems all through the world and in Turkey. The place of biochemical examinations in the diagnosis and perseverance of the illness haven't been denied.

In recent years, various markers have been examined with respect to the diagnosis of malignant diseases. Among these are Alkaline phosphatase (ALP), Sialic acid (S.A.) and ceruloplasmin (SP). As it is known, Alkaline phosphatase is deposited in great quantities in the golgi complex and endoplasmic reticulum, and particularly in the cell membrane of tumour cell. The malignant tissue that quickly grows in time, damages the normal tissue. Alkaline phosphatase levels around the tumour, in serum and extracellular compartment were found increased in several studies.

The surface of cancer cells differs in many respects from normal cells. Neoplastic transformations of a variety of cell types are associated with changes in the composition of membrane glycoproteins.

Serum total sialic acid and lipid bound sialic acid levels have drawn considerable interest because of glycoproteins and glycolipids aberrations in cell which have abnormal functions.

Mean values for serum total Alkaline phosphatase, sialic acid and ceruloplasmin levels were found to be, 89.08 ± 63.19 IU/L, 89.16 ± 23.87 mg/dl, 45.28 ± 14.94 mg/dl

respectively. Serum SA/ALP, ALP/SP, SA/SP ratios were found to be, 1.307 ± 0.802 , 2.32 ± 2.59 , 2.18 ± 0.91 respectively. Serum ALP, sialic acid, ceruloplasmin, SA/ALP and ALP/SP levels when compared to the levels in the control group, have been found statistically significant, ($P < 0.001$) ($P < 0.01$) ($P < 0.05$).

The data obtained in our study and the knowledge obtained from the literature showed that, serum ALP, sialic acid, ceruloplasmin and serum SA/ALP and ALP/SP ratios are important in the diagnosis and the perseverance of the lung carcinomas.

KAYNAKLAR

- 1-AKKIZ, H., ÇOLAKOĞLU, S., KARAYAYLALI, İ., TETİKER, T., AKIN, O., ERGÜN, Y.: Karaciğer hastalıklarında Gamma glutamil transpeptidaz ile Alkalen fosfataz korelasyonu. Ç.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi, 4: 434-438, 1990.
- 2-ALPERS, D.H., ELIAKIM, R., DESCHRYVER, K.: Secretion of hepatic and intestinal alkaline phosphatases: Similarities and differences. Clin.Chim.Acta, 186:211-224, 1989.
- 3-ANDERSON, D.J., BRANUM, E.L., O'BRIEN, J.F.: Liver and Bone-Derived isoenzymes of Alkaline phosphatase in serum of Determined by High-Performance Affinity Chromatography. Clin.Chem. 36/2: 240-246, 1990.
- 4-ARAS, K., Klinik Biyokimya Hacettepe Taş Kitapçılık, Ankara. 346-361, 1975.
- 5-ASAMI, T., TANAKA, A., GUNJI, T., SAKAI, K., ASAMI, K.: Elevation of cerebrospinal fluid sialic acid concentration in children with central nervous system leukemia. Acta Pediat. Scand. 76: 260-265, 1987.
- 6-AYDINOL Belkıs: Alkalen Fosfatazların çoklu yapıları; Genetik ifade edilmeleri ve doku özel modifikasyonu. Çeviri. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 14/1-4:327-381, 1987.
- 7-BALCI, K.: Göğüs Hastalıkları. Cilt 2 Ayyıldız matbaası, Ankara. 201-210, 1978.

- 8-BALINSKY, D., GREENGARD, D., CAYANIS, E., HEAD, J.F.:
Enzyme Activities and isoenzyme patterns in Human Lung
Tumors.Cancer Research. 44: 1058-1062, March, 1984.
- 9-BAYINDIR, O., ÇIMRIN, D., ERLAÇIN, S., BAYINDIR,Ü.,
UÇAN, E.S.: Bronş Kanserlerinde ve Bronkolalveolar
lavaj (BAL) sıvısı lipide bağlı sialic acid (LAS)
düzeylerinin tanısal değeri.Ege Üniv.Tıp Fak.Dergisi.
28/5: 2209-2212, 1989.
- 10-BENTOUATI, L., SAMADI, M.B., HACHEM, H., HAMZA, M.,
CANAL, P., SOULA, G.: Hyperphosphatasemia related
to three intestinal Alkaline phosphatase isoforms:
Biochemical study.Clin.Chem.Acta, 189:145-152, 1990.
- 11-BİNGÖL, Sezin: Elektroforetik olarak ayrıştırılan
Alkalen fosfataz izoenzimlerinin klinikteki değeri.
Klinik Biyokimya ihtisas tezi, Ankara, 1988.
- 12-BROZMANOVA, E., SKROVINA, B.: Sialic Acid and Bone
Tumors.Neoplasma 19/2:115-124, 1972.
- 13-CIMMIND, M.A., ACARDO, S.: Changes in the isoenzyme
pattern of Alkaline phosphatase in patients with
Rheumatoid Arthritis.Clin. Chem. 36/7:1376-1377,1990.
- 14-CLEEVE, H.J.W., TUA, D.C.: Studies of the Regan
Alkaline phosphatase isoenzyme in plasma from a lung-
Carcinoma patients.Clin.Chem. 29/4: 715-717, 1983.
- 15-COHEN, A.M., ALLALOUF, D., DJALDETTI, M., WEIGL, K.,
LEHRER, N., LEVINSKY, H.: Sialyl transferase activity
in plasma cells of multiple myeloma.Eur.J. Haematol
43: 191-194, 1989.

- 16-ÇELİK Yalçın: Diyarbakır Bölgesinde, Sağlıklı kişilerde
Ötiroidili, Hipertiroidili ve Hipotiroidili Hastalarda
saptanan Serum Protein ve Fraksiyonları, Serum Serülo-
plazmin ve Sialik Asid Değerlerinin Karşılaştırılması.
Uzmanlık Tezi. Diyarbakır, 1985.
- 17-ÇİMRİN, O., BAYINDIR, O., BAYINDIR, Ü., ÇİMRİN, A.:
İdiopatik pulmoner fibroziste (IPF) Serum lipide bağlı
sialik asid (LSA) düzeylerinin tanısal değeri. Ege Üni.
Tıp Fak. Dergisi 28/ 5:2205-2208, 1989.
- 18-DNİSTRİAN, A.M., SCHWARTZ, M.K.: Biochemical markers in
cancer. Clin.Chem. 30:1000-1001, 1984.
- 19-DNİSTRİAN, A.M., SCHWARTZ, M.K.: Plasma Lipid-bound
sialic acid and carcinoembryonic Antigen in cancer
patients. Clin.Chem. 27/10: 1737-1739, 1981.
- 20-DNİSTRİAN, A.M., SCHWARTZ, M.K., KATAPOLIS, N., STOCK, C.C.:
Serum Lipid-Bound Sialic Acid as a Marker in Breast
cancer. Cancer, 50: 1815-1819, 1982.
- 21-DOĞAN, P., MUHTAROĞLU, S.: Pre-Eklampsi ve Eklampsi'de
serum total ve lipide bağlı sialik asid seviyeleri.
Erciyes Tıp Dergisi. 12:10-16, 1990.
- 22-DWİVEDİ, C., DİXİT, M., HARDY, R.E.: Plasma Lipid-bound
sialic acid alterations in neoplastic diseases. Experi-
entia, 15,16/1:91-94,1990.
- 23-DWİVEDİ, C., DİXİT, M., KUMAR, S.S., REDDY, H., SEMENYA, K.A.,
HARDY, R.E.: Plasma sialic acid Alternations in
neoplastic Diseases. J.Med. 18, 5/6:323-332,1987.

- 24-EKEKE, G.I. and IBEH, G.O.: Sialic acid in sickle cell Diseases.Clin.Chem. 34/7:1443-1446, 1988.
- 25-ERBİL, K.M., JONES, J.D., KLEE, G.G.: Use and Limitations of Serum Total and Lipid-Bound Sialic Acid concentrations as Markers for colorectal cancer.Cancer, 55:404-409, 1985.
- 26-ERKOÇAK, Aliye: Özel Histoloji. Ankara Üniv.Tıp Fak. yayınları. 4.Baskı. Ankara, 130-145, 1982.
- 27-FADİLOĞLU, M., ÖNVURAL, B., CELİLOĞLU, M., ÖZGÖREN, B.: Myoma uteri olgularında serum bakır ve serüloplazmin düzeyleri. Dokuz Eylül Üniv. Tıp Fak. Dergisi. 4/1: 11-17, 1989.
- 28-FISHMAN, W.H., INGLIS, N.R., GREEN, S., ANSTISS, C.L., GOSH, N.K., REIF, A.E., RUSTIGAN, R., KRANT, M.J., STOLBACH, L.L.: Immunology and Biochemistry of Regan isoenzyme of Alkaline phosphatase in Human cancer.Nature.219/17: 697-699, 1968.
- 29-FRITSCHÉ, H.A., ADAMPS-PARK, H.R.: Cellulose Asetate Electrophoresis of Alkaline phosphatase isoenzyme in Human serum and Tissue.Clin. Chem. 18/5:417-421, 1972.
- 30-FISCHMAN, P.A.: Pulmoner Diseases and Disorders. İkinci Baskı, cilt 3, 1905-1906, 1988.
- 31-GALDSTON, M., LEVYTSKA, V., SCHWARTZ, M.S., MAGNUSSON, B.: Ceruloplasmin: Increased serum concentration and impaired antioksidant activity in cigarette smokers and ability to prevent suppression of elastase inhi-

- bitory capacity of alpha-1- Protease inhibitor. Am. Rev Respir dis, 129/2:258-263, 1984.
- 32-GAZIOGLU, Kuddusi: Akciğer hastalıkları, cilt 2. Tekofset Matbaası, İstanbul, 707-771, 1978.
- 33-GITLIN, JONATHAN, D.: Transcriptional Regulation of ceruloplasmin gene Expression during Inflammation. J. Biol. Chem. 263/13: 6281-6287, 1988.
- 34-ĞÜZEN, Belkıs: Aktinomisin D'nin civciv embriyosu üzerine olan etkilerin incelenmesi. Doktora tezi. Adana. 1982.
- 35-HACIHANEFIOGLU UĞUR: Akciğer Patolojisi Ders Kitabı. Cilt 2, Çeliker matbaacılık, İstanbul, 289-353, 1979.
- 36-HAMILTON, B.A.: HAWRYLAK, K., STINSON, R.A.: Alkaline phosphatase celeasing activity in human tissues. Clin. Chim. Acta, 186: 249-254, 1989.
- 37-HAMMER, V.D.: The role of galactosyl residues in the clearence of ceruloplasmin from the circulation, J. Biol. Chem. 245: 4397-4402, 1970.
- 38-HARDIN, E.: Artifactual Alkaline phosphatase isoenzyme Band, Caused by Bilirubin, on cellulose Acetate Electropherograms. Clin. Chem. 24/1: 178-179, 1978.
- 39-HARRIS, H.: The Human Alkaline Phosphatases: What we know and what we don't know. Clin. Chim. Acta. 186: 133-150, 1989.
- 40-HENN, V.K.H., GRESSNER, A.M.: Zur Klinischem wertigkeit der sialinsäureim serum bei benignen and

- malignen Erkrankungen. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 25:423-430, 1987.
- 41-HINSHAW, H.C., MURRAY, J.F.: Diseases of the chest
Dördüncü Baskı, Philadelphia, 730-731, 1980.
- 42-HIGASHINO, K., MURATANI, K., HADA, T., AMURA, Y.,
KISHIMOTO, T.: Purification and some properties of the
fast migrating alkaline phosphatase in FL-amnion cells
and its cDNA cloning, *clin.Chim.Acta*, 186:151-164, 1989.
- 43-HIRANO, K., KOYAMA, I., STIGBRAND, T.: Purification
and partial characterization of the placental-like
alkaline phosphatase in Human lung tissue. *Clin.*
Chim.Acta, 186: 265-274, 1989.
- 44-HIROTA, N., SAKAI, T., KOMODA, T.: Histochemical,
Ultracytochemical and Biochemical Study of Alkaline
Phosphatase activity during gastric carcinogenesis.
Clin.Chim.Acta. 186: 301-308, 1989.
- 45-HOEK, F.S., TYTGAT, G.N.J.: Affinity Electrophoresis
of Alkaline Phosphatase isoenzymes. *Clin. Chem.* 32/1:
235-237, 1986.
- 46-HOGAN, R.A., FENLEY, J.J., JONES, J.: Serum Sialic
Acid and CEA concentrations in Human Breast cancer. *B.*
J. Cancer. 41:587-592, 1980.
- 47-IMANISHI, H., HADA, T., MURATANI, K., HIRANO, K.,
Higashino, K.: An Alkaline phosphatase reacting with
both monoclonal antibodies to intestinal and placental
isoenzymes. *Clin.Chim.Acta.* 186: 309-314, 1989.

- 48-JACOB, W.S., FRANCONI, C.A., LOSSOW, W.J.: Structure and Function in Man. Beşinci Baskı, W.B. Saunders company. 452, 1982.
- 49-JONATHAN, D.G.: Transcriptional Regulation of ceruloplasmin Gene Expression during inflammation. J.Biol. Chem. 263/13:6281-6287, 1988.
- 50-KAKARI, S., MICHAELIDIS, G., BESBEAS, S.T., FERDERIGOS, A.S., TSITSOURA, M., POULAKI, E.: Serum Lipid-Bound Sialic acid as a marker of Gastrointestinal Cancer. Anticancer Research 4/1: 3-6, 1984.
- 51-KARACA, B., HEPKORAMAN, N.: Post operatif meme ve kolon kanserlerinde. MCA, CEA ve sialik asid düzeyleri. İzmir Devlet Hastahanesi Tıp Dergisi, XXIX/2:208-209, 1991.
- 52-KAWASAKI, J., ASHWELL, G.: Chemical and Physical properties of a hepatic membrane protein, that specifically binds asialoglycoproteins. J. Biol. Chem. 251: 1296-1302, 1976.
- 53-KILIÇOĞLU, M., BAYINDIR, O.: İnsan serum serüloplazmin düzeyleri, Journal of the medical faculty of Ege Univ. 19/4:543, 1980.
- 54-KILIÇOĞLU, M., BAYINDIR, O.: Lösemi, Hodgkin ve hamilelikte insan serum serüloplazmin düzeyleri. Ege Univ. Tıp Fak. Dergisi. 19/4: 555-557, 1980.
- 55-KIM, E.E., WYCKOFF, H.W.: Structure of Alkaline phosphatases. Clin. Chim. Acta. 186:175-188, 1989.
- 56-LOUSTAD, R.A.: Kinetic Studies on the ceruloplasmin catalysed oxidation of phenothiazin derivatives. Biol.

- Pharmacol. 24:475-478, 1975.
- 57-LOW, M.G., SALTIEL, A.R.: Structural and functional roles of glycosylphosphatidylinositol in membranes. Science 239: 268-275, 1988.
- 58-MARTIN, D.W., MAYES, P.A., RODWELL, V.W.:Harperin Biokimya Bakışı, Çeviri Ege Üniversitesi yayını İzmir, 630/813:820, 1988.
- 59-MATHEWS, C.K., HOLDE, V.K.E.:Biochemistry:The Benjamin/cumminigs publishing company. 279: 556-558, 1990.
- 60-MITSURU, S., GITLIN, J.D.: Mechanisms of copper Incorporation During the Biosynthesis of Human ceruloplasmin. J.Biol.Chem. 15, 266/8: 5128-5134, 1991.
- 61-MORELL, A.G., GREGORIADIS, G., SCHEINBERG, I.H., HICKMAN, J., ASHWELL, G.:The role of sialic acid in determining the survival of glycoproteins in the circulation. J. Biol.Chem. 246: 1461-1467, 1971.
- 62-MOSS, D.W.: Alkaline phosphatase isoenzymes.Clin.Chem. 28/10: 2007-2016, 1982.
- 63-MOSSNER, E., PFLEIDERER, G.:Placental Alkaline phosphatase in Tumour Tissue and Serum.J.Clin.Chem.Clin. Biochem. 22:467-471, 1984.
- 64-OSAK, S., JOHNSON, D.A., FRIEDEN, E.: The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human Serum. J.Biol.Chem. 241: 2746-2751, 1966.

- 65-PACHT, E.R., D.AVIS, W.B.: Decreased ceruloplasmin ferroxidase activity in cigarette smokers. J.Lab. Clin. Med. 111/6:661-668, 1988.
- 66-POUKULA, A., HAKALA, M., HUHTI, E.: Serum Copper, Zinc and ceruloplasmin concentrations in patient with Lung cancer. Respiration, 51:272-276, 1987.
- 67-RAVIN, H.A.: An improved colorimetric enzymatic assay of ceruloplasmin J.Lab.and Clin.Med.161-168, July.1961.
- 68-REAGAN, H.A., NACHT, S., LESS, G.R., BISHOP, C.R., CARTWRIGHT, G.E.: Effect of ceruloplasmin on plasma iron in copper deficient swine, Am.J.Phys. 217:1320-1323, 1969.
- 69-RICE, E.W.: Evaluation of the role of ceruloplasmin as an acute phase reactant. Clin.Chim.Acta. 6:652-655, 1962.
- 70-RILEY, M., TAUTU, C., VERAZIN, G., GREGORY, J., JOSIAH, S., PROROK, J.J., ALHADEFF, J.A.: Evaluation of sialic acid concentrations in serum for the Diagnosis and staging of Breast Cancer. Clin.Chem. 36/1:161-162, 1990.
- 71-RONQUIST, G., NOU, E.: Serum sialyltransferase and fucosyltransferase Activities in patients with Bronchial carcinoma. Cancer 52:1679-1683, 1983.
- 72-SEAL, U.S.: Vertebrate Distribution of Serum ceruloplasmin and sialic acid and the effects of pregnancy. Comp.Biochem.Physion, 13:143-159, 1964.
- 73-SEBER, D.: Bronş kanseri ve kanser dışı Akciğer hastalıklarında Bronş-Lavaj ve serum lipide bağlı sialik

- asid düzeylerinin tanısal değeri. GATA Bülteni 26:593-602, 1984.
- 74-SEBER, O.: Bronş kanserlerinde Bronş-Lavaj Alkalen fosfataz düzeylerinin tanı değeri. GATA Bülteni, 26:579-586, 1984.
- 75-SHAHANGIAN, S., FRITSCH, H.A.: Plasma Lipid-Bound sialic acidin monitoring of surgical Therapy of patients with colonic Adenocarcinomas:Aprelimin Report. Clin.Chem. 33/6: 255, 1987.
- 76-SHAMBERGER, J.R.: Sialic Acid Levels in Cancer patients and patients with other Diseases.Clin.Chem.28: 1983-1984, 1982.
- 77-SHAMBERGER, J.R.: Sialic Acid in Cancer Patients.Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 22: 21, 1981.
- 78-SHIFRINE, M., FISHER, G.L.: Ceruloplasmin levels in sera from human patients with osteosarcoma. Cancer. 38:244, 1976.
- 79-SMITH, E.L., HILL, R.L., LEHMAN, I.R.,LEFKOWITZ, R.J., HANDLER,P.,WHITE,A.:Principles of Biochemistry:General Aspects. Yedinci Baskı, McGraw-HILL BOOK company, 453-456, 1983.
- 80-SNELL, R.S.:Clinical Anatomy for Medical Students. Üçüncü Baskı, Little.Brown and company Boston/Toronto, 93, 1984.
- 81-SUKYASYAN, A., BEGER, T., TEZCAN, U., DEMİROĞLU, Ç.: Kemik ve Hepatobiliyer kökenli serum Alkali fosfatazların ısıya labiliteleri arasındaki farklılık.Klinik

- Gelişim. 4:1353-1356, 1991.
- 82-TARTTER, P.I., SLATER, G., GELERT, I., AUFSES, A.H.:
Screening for liver metastases from colorectal cancer
with carcinoembryonic antigen and alkaline phosphatase.
Ann.Surg., 193/3:357-360,1981.
- 83-TARTTER, P.I., SLATER, G., PAPATASTER, A.E., AUFSES,
A.H.: The prognostic significance of elevated serum
alkaline phosphatase levels preoperatively in patients
with carcinoma of the colon and rectum. Jr.Surg.,
Gynecol Obstet. 158/6:569-571,1984.
- 84-TIETZ, N.W.: Textbook of Clinica Chemistry. Birinci
Baskı, W.B.Saunders company,philadelphia,975-985,1986.
- 85-TIMIMI, D., DORMANDY, T.L.: The inhibition of lipid
autoxidation by human seruloplasmin.Biol.J. 168:283-
288, 1977.
- 86-TIMPERLEY, W.R.:Alkaline phosphatase secreting Tumour
of lung.The lancet 10:356, 1968.
- 87-UNGAR, H., GLUCMAN, A.,SPIRA, E., WARON, M.,TRAININ,
Z.:Ceruloplasmin as a Marker of neoplastic activity
in rabbits bearing the vx-2 carcinoma.Cancer Research,
38:1296, 1978.
- 88-ÜLGENALP, İ.:Kadın genital kanserlerinde serum lipide
bağlı sialik asid (LSA) ölçümlerinin yeri.GATA.Bülteni
26:63-69, 1984.
- 89-ÜSKENT, N., KARACA, L., KARAYILANOĞLU, T., YALÇIN, A.,
BERK, Ü.: Malign lenfoma ve akut lösemilerde serum

- lipide bağlı sialik asid (LSA)'in "Marker" olarak kul-
lanılması. GATA Bülteni. 26:91-99, 1984.
- 90-ÜSTDAL, M.,KADIOğLU, N.M.:Türk toplumunda serüloplazmin
oksidaz aktivitesi ve serüloplazmin polimorfizim. Doğa
Türk Tıp ve Ecz. Dergisi, 12/3: 269-273, 1988.
- 91-VERPOOTEN,F.G., HOYLAERTS,M.F., NOUMEN,E.J., DE BROE,
M.E.: Human fetal intestinal alkaline phosphatase:
Molecular heterogeneity and immunological detection in
amniotic fluids.Clin.Chim.Acta.186:225-238,1989.
- 92-VIALOKOVA, M., ERAZIMOVA, J., HORKY, J.,PLACER, Z.:
Celationship of serum antioxidative activity to
tocoferol and serum inhibitor of lipid peroxidation.
Clin.Chim. Acta. 36: 61-66, 1972.
- 93-VİDİNEL İlhan: Akciğer hastalıkları. Ege Üniv.Basımevi.
İzmir. 377-387, 1989.
- 94-VİOT, M., THYSS, A., VİOT,G.: Alpha 1-isoenzyme of
Alkaline phosphatases, Clinical importance and value
of the Detection of liver metastases.Cancer, 52: 140-
145, 1983.
- 95-VİOT, M., THYSS, A., SCHNEIDER, M., VİOT, G.,RAMAIOLI,
A., CAMBON, P., LALANNE, C.M.: Alpha 1-isoenzyme of
Alkaline phosphatases. Cancer.52: 140-145, 1983.
- 96-WARREN, L., The thiobarbitüric acid assay of sialic
acids.J.Biol.Chem. 234:1971-1975, 1959.
- 97-WARREN, L., FUHRER, J.P., BUCK, C.A.:Surface glycopro-
teins of normal and transformed cells. A difference

determined by sialic acid and a growth-dependent sialic transferase. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 69:1839/7: 1842, 1972.

98-YENEL, F., SÖZER, K., ERK, M.: Akciger hastalıkları Ders Kitabı. İkinci Baskı Kral Matbaası, İstanbul. 1987.

99-YENSON, M.: İnsan Biyokimyası. Beşinci Baskı, İstanbul Univ. Yayınları, İstanbul, 150, 388, 675, 1984.

100-YILMAZ, C., TAVLI, T., BAYINDIR, O., BİRSEN, A., ÖZMEN, D.: Tiroid hastalıklarında sialik asid. Ege Univ. Tıp Fak. Dergisi. 28/5: 1989-1997, 1989.

101-YILMAZ, N., ARTVINLI, S., AKSU, A.: Sağlıklı bireylerin serum serüloplazmin düzeyleri. Akdeniz Univ. Tıp Fak. Dergisi VII/ 3-4:9-19, 1990.

102-ZILVA, J.F., PANNALL, P.R.: Semptom ve teşhiste laboratuvar. Güven kitabevi. Ankara. 276, 294-295, 343, 1978.

103-ZOPPI, F.: Colorimetric assay for the enzymatic determination of sialic acid (N-acetyl-neuraminic acid: AcNeu) in serum. Biochim. Clin. 9: 1078, 1985.