

MALİGN HASTALIKLARDA-LİPİDLER ve LİPOPROTEİNLERİN İMMÜN SİSTEME ETKİSİ

Ümit Ölmez*

Güner Tokgöz**

Son yıllarda, lipoproteinlerin immün sistemi düzenleyici etkileri daha iyi tanımlandı. Lipoproteinlerin, özellikle tümöre karşı, konakçının lenfoid fonksiyonunu düzenledikleri gösterildi (12,22). Bu grupta en sık sözü edilen, düşük dansiteli lipoproteinler (LDL)'dir (9,10,12, 13). Yine yapılan çalışmalar sonucu, yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) ve çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) de immünregülatör lipoproteinler sınıfına sokulmuşlardır (1,8,14,17).

Kanser gelişimi sırasında hücre sel veya humoral immün sistemde bozukluklar olabilir. Dolaşan T lenfositlerinin azaldığı, deride aşırı duyarlılık reaksiyonunun kaybolduğu (anergi), in vitro mitojene cevap, antijen ile stimülasyondan sonra mediyatörlerin salınımında yetersizlik, lenfosit transformasyonunda azalma olabileceği gösterilmiştir. Bu olayların tümör ilerledikçe devam ettiği ,remisyonda ise bulguların normale döndüğü gözlenmiştir (2,24,27).

Bu çalışmada, serumdaki lipidler ve lipoproteinlerin, malign hastalıklardaki durumu ve immün sistemle ilişkisinin ve sonuçların daha önceki çalışmalarla uyumlu olup olmadığını göstermek istedik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Şubat 1984 - Ekim 1987 tarihleri arasında A.Ü.T.F. Hematoloji-Onkoloji, İmmünoloji, Genel Cerrahi, Göğüs Cerrahisi Bilim Dallarında yatarak tetkik edilmiş ve biopsi ile malignite tanısı almış 31 hasta ile, 20 sağlıklı kişi alındı.

Hasta grubu; yaşları 15-45 arasında olan 12 kadın, yaşları 14-46 arasında olan 19 erkek, kontrol grubu; yaşları 22-28 arasında 8 kadın ve yaşları 22-31 arasında olan 12 erkek'den oluşuyordu. Tablo 1.

* A.Ü. Tıp Fak. İmmünoloji Bilim Dalı Uzman Araştırma Görevlisi,

** A.Ü. Tıp Fak. Dahili Tıp Bilimleri Bölüm ve İmmünoloji Bilim Dalı Başkanı, Prof.

Tablo 1 - Hasta ve kontrol grubunun özellikleri.

	Hasta grubu (n : 31)	Kontrol grubu (n : 20)
— Yaş	14-46	22-31
— Kadın	12	8
— Erkek	19	12
— Ailede kanser hikayesi	7	4
— Beslenme	K+S : 30	18
	K : 1	1
	S : —	1

K : Katı yağ, S : Sıvı yağ

Hastaların tanıları Tablo II'de görülmektedir. Bu çeşitli sistem maligniteleri olan olgularda hastalığın yaygınlık derecesi farklı idi.

Hastaların 8'ine laparotomi yapılmıştır. Bunların içinde de 6'sına cerrahi girişim dışında spesifik bir tedavi yapılmamıştır. İki hastaya operasyon sonrası radyoterapi yapılmıştır. Çalışma için kan alındığı sırada 12 hasta tedavi altındaydı. Bunların 9 tanesi sitostatik tedavi, ikisi radyoterapi, diğeri de kortikosteroid alıyordu. Geriye kalan 19 hasta, çalışma sırasında tedavi almıyordu Tablo II.

Tablo III - Lipidler ve lipoproteinlerin değerleri

	Kontrol grubu (20) ortalamalar	Hasta grubu (31) ortalamalar	p
Kolesterol mg/100 ml.	198.250 ± 20.746	191.355 ± 74.108	>0.05
Total lipid mg/100 ml.	808.300 ± 140.380	871.194 ± 251.525	>0.05
Trigliserid mg/100 ml.	113.350 ± 54.263	107.306 ± 72.264	>0.05
Beta lipoprotein	42.155 ± 13.380	46.935 ± 15.771	>0.05
Prebeta lipoprotein	26.700 ± 10.132	28.723 ± 12.230	>0.05
Alfa lipoprotein	31.145 ± 10.869	24.324 ± 11.301	<0.05

Bu çalışmaya hasta ve kontrol olarak 46 yaşın üstündeki şahıslar alınmadı. İleri yaşla artan lipoprotein değişiklikleri ve immünite bozukluklarının araştırmanın sonuçlarını değiştirmemesine özen gösterildi.

Hastalardan sabah aç karnına, E Rozet ve yüzey immünglobülinleri için 5 cc. heparinli, diğer testler için de 5 cc venöz kan alındı.

Lipid elektroforezi; Selüloz asetat yöntemiyle (Gelman) yapılmıştır (11). Serumda kolesterol tayini; Liebermann-Burchard metodu ile (6,15) Merckotest kitleriyle, total lipid tayini; Zöllner ve Kirsch metodu ile (28) Merckotest kitleriyle, trigliserid tayini; Royer ve Ko metodu ile (20) Bio Merieux kitleriyle ölçüldü.

E Rozet testi; Jondal'ın (1) koyun kanıyla T lenfositlerinin spontan rozet yapma esasına dayanan yöntemi modifiye edilerek yapıldı. En az 200 hücre sayılarak, çevresinde en azından üç koyun eritrositi olan lenfosit müsbet kabul edildi. Sonunda değerler, yüzde olarak verildi.

Serum immünglobülinleri; IgA, IgM, IgG, Behring Werke firmasının nor-partigen immün diffüzyon plaklarında araştırıldı.

Yüzey immünglobülinleri; Peter Lobo'nun tarif ettiği yöntemle yapılmıştır (16). Sonuçlar, immünfloresan mikroskopta 400 hücre sayılarak boya alan lenfositlerin yüzdesi şeklinde verildi.

Serumda kolesterol, total lipid trigliserid tayini Merkez Laboratuvarında, diğer testler İmmünoloji laboratuvarında yapılmıştır.

SONUÇLAR

Hasta ve kontrol grubundaki kolesterol, total lipid, trigliserid değerleri ve lipid elektroforezi sonuçları Tablo III'de gösterilmiştir. Buna göre; kolesterol, total lipid, trigliserid miktarları iki grup arasında farklı değildi ($p > 0.05$). Lipid elektroforezinde ise alfa lipoproteinler (HDL) hastalarda, kontrollerden anlamlı bir şekilde düşüktü ($p < 0.05$). Beta (LDL) ve prebeta (VLDL) lipoprotein değerleri farklı değildi ($p > 0.05$).

Hasta ve kontrollerdeki E Rozet testi ve serum immünglobülin (Ig) değerleri Tablo IV'de görülmektedir. E Rozet testi, hastalarda anlamlı şekilde düşüktü ($p < 0.001$). Serum immünglobülin miktarları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).

B lenfosit yüzey immünglobülinleri (sIg) incelendiğinde (Tablo V), sIgA değerleri hastalarda kontrollerden anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). sIgM ve sIgG değerlerinde anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Hastalar tedavi alan ve almayan olarak iki gruba ayrılarak, ikisi arasında E Rozet, sIgA değerleri karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo II : Hasta grubu ve tanıları

Sıra No.	Adı Soyadı	Yaş Cins	Protokol Numarası	Tanı ve Histopatolojik Tipi	Tedavi*
1	CK	28, E	44/K-203	ALL	—
2	AA	19, K	515/37131	ALL	S
3	AA	14, E	46/A-178	NonHodgkin Lenfoma (lenfositik, histiositik tip)	S
4	MK	40, E	545/32460	Malign melanom	R
5	SD	24, E	55/D-211	NonHodgkin Lenfoma (histiositik tip)	—
6	AY	14, E	44/Y-76	ALL	KS
7	MÖ	44, K	61/B-19	Meme Ca (infiltratif lobüler Ca)	—
8	EÖ	38, K	644/0-143	Meme Ca (infiltratif duktal Ca)	—
9	YÇ	45, E	722/C-164	Mide Ca (Leiomyoblastoma)	—
10	SE	15, K	83/E-333	ALL	—
11	AU	46, E	66/U-80	NonHodgkin Lenfoma (lenfositik, prolenfositik tip)	S
12	GT	45, K	780/T-126	Rektum Ca (müsinöz Ca)	—
13	BS	27, K	33/S-44	Sürenal Ca	—
14	ES	38, K	72/S-204	Hodgkin Hast. (Lenfositten fakir tip)	S
15	AK	30, E	76/K-327	KML	S
16	SO	35, E	922/0-159	Tiroid Ca (papiller Ca)	—
17	İA	36, E	85/A-324	AML	—
18	EÇ	17, K	18826/C-242	Özofagus Ca (adenokarsinom)	—
19	ND	45, E	97/D-368	Akciğer Ca (yassı hücreli Ca)	S
20	LS	38, K	1152/S-274	Tiroid Ca (medüller Ca)	—
21	MD	29, K	1301/D-448	Rektum Ca (taşlı yüzük hücreli Ca)	—
22	DA	16, E	262404	KML	S
23	AT	22, E	118726	Hodgkin Hast. (nodüler sklerozan tip)	—
24	LU	20, K	272619	NonHodgkin Lenfoma (orta derecede diferansiye lenfositik lenfoma)	S
25	KG	41, E	269028	Hodgkin Hast. (mixed sellüler tip)	—
26	AE	20, E	272575	Hodgkin Hast. (lenfositten zengin tip)	—
27	AO	29, E	272537	Hodgkin Hast. (lenfositten zengin tip)	S
28	HT	35, E	274040	Seminom metastazı	—
29	FT	35, K	276853	ALL	—
30	DA	33, E	272536	Hodgkin Hast. (mixed sellüler tip)	R
31	ME	25, E	245113	Nüks ALL	—

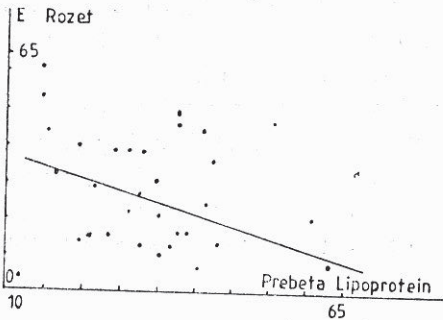
* : Kan alındığı sırada tedavi alanlar. R : Radyoterapi

S : Sitostatik tedavi

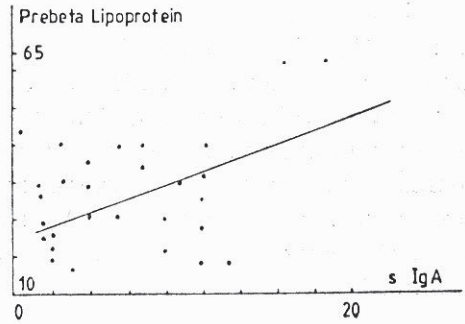
KS: Kortikosteroid

E Rozet testiyle; kolesterol, lipid, trigliserid ve Rozet testiyle lipoproteinler arasında ilişkiler araştırıldı. Sadece E Rozet ile prebeta (VLDL) lipoproteinler arasında negatif bir korelasyon saptandı. Şekil 1. Regresyon analizinde ise lineer bir ilişki bulundu.

Lipoproteinlerin her biri ile, yüzey immünglobülinleri arasında ilişki araştırıldı. Yalnız prebeta lipoprotein (VLDL) ile sIgA arasında pozitif bir korelasyon ve regresyon analizinde ise lineer bir ilişki saptandı Şekil 2.



Şekil 1 : E Rozet testi ile prebeta (VLD) arasındaki ilişki $y : 39.96 - 0.556x$, $r : -0.415$, $p < 0.05$



Şekil 2 : Prebeta (VLDL) ile s IgA arasındaki ilişki $y : 20.322 + 1.487x$, $r : 0.549$, $p < 0.01$

TARTIŞMA

Serum lipoproteinleri; kolesterol (serbest ve esterifiye), fosfolipid, trigliserid ve suda erimeyen lipidlerle, onların plazmada koloidal süspansiyon halinde kalmalarını sağlayan proteinlerden meydana gelen büyük moleküllü agregatlardır (2,3).

Primer tip 4 (VLDL yüksek) ve tip 5 (VLDL, şilomikron yüksek) hiperlipoproteinemide ^3H timidin'in kültürdeki mononükleer hücrelerle birleşmesi inhibe olur. Waddel ve ark. larına göre, inhibitör etki, şilomikron ve VLDL ile ilgilidir. Bu iki lipoproteinin, ya membran düzeyinde membran yapısını değiştirerek veya hücreye girip metabolizmasını bozarak lenfoproliferasyonu engellediği düşünülmektedir (26). Ailede kanser hikayesi varsa VLDL konsantrasyonları yüksek bulunmuştur (Chisari ve ark. ları) (8).

LDL insanda; in vitro aktive hücrelerde mitojenle olan cevabı basıklar. Bu etkiyi, hücre içinde Ca^{++} birikimini engelleyerek, cGMP sentezi ve fosfolipid turnover'ını bozarak yaptığı sanılmaktadır (14).

Curtiss ve Edgington, normal insanlarda, *in vitro* mitojenik ve allojenik lenfosit stimülasyonunu inhibe eden, LDL sub grubu olan bir düşük dansiteli lipoprotein (LDL-In)'i izole ettiler (12,9,10). Chisari, Edgington ve arkadaşları da, insanda hepatit B virus enfeksiyonu sırasında, T lenfositlerinin E rozet fonksiyonunun bozulduğunu göstererek, serumda «rozet inhibe edici faktör» (RIF) denilen LDL grubunda bir madde izole ettiler. Hodgkin hastalığında da RIF'e benzer bir lipoprotein bulunmuştur (7,12).

Nydegger, Butler ve ark. ları, kanserleri hastalarda, alfa₁ lipoprotein (HDL₁), fosfolipid ve kolesterolü, normallerden düşük bulmuşlardır (1,17). Bu yazarlara göre alfa₁ lipoprotein kansere karşı koruyucudur, azaldığında kanser gelişmesi kolaylaşır. Kanserlin erken teşhisinde faydalı bir parametre olabilir denmektedir (1,14,17). Barclay ve ark. larının 5 yıl süren bir çalışmasında HDL₂ kanserli hastalarda, kontrollerden düşük bulunmuştur. Ayrıca ailesinde kanser hikayesi olan HDL₂ si düşük normal kişilerde, sonraki takiplerde kanser geliştiği gözlenmiştir (1).

Sonuçlarımızda hastalardaki kolesterol, total lipid, trigliserid miktarları, kontrollerden farklı değildi ($p > 0,05$). Lipoprotein fraksiyonlarında beta (LDL) ve prebeta (VLDL)de anlamlı bir fark olmamasına karşın, alfa (HDL) lipoprotein, hasta grubunda anlamlı derecede düşüktü ($p < 0,05$). Bu bulgu, HDL'nin kansere karşı koruyucu olduğu, azalınca karsinogenezisin kolaylaştığı şeklindeki literatür bilgisi ile uyumludur.

Deneyisel çalışmalara göre, doymamış yağ asitleri immünosupresif etkili bulunmuştur (5). Hastalarımızın ve kontrollerin çoğu katı + sıvı yağ ile besleniyordu. Bu nedenle diyet farklarına göre sonuçları karşılaştıramadık.

T lenfosit ayrımı ve hücrel immünitenin göstergesi olan E rozet testi (25), malign lenfomalı hastalarda bozulmuştur (18,21). T hücreli ALL ve T hücreli KLL'de T lenfositlerinin E rozet yapımı hasara uğramıştır (21,25). Bizim sonuçlarımızda da hasta grubunda E rozet değerleri, kontrollerden anlamlı şekilde düşük bulunarak ($p < 0,001$), hücrel immünite defekti saptandı.

Çeşitli malignitelere humoral immünite göstergesi olarak immünglobülin (Ig) miktarları intelenmiştir (3,18,19,23). Opat ve ark.larına göre malign lenfomada uzun süre yaşayanlarda IgA artar, ileri

devrede düşer (18). Solid tümörlerde, örneğin meme Ca'da önce yükseldiği, hastalık ilerledikçe daha yüksek seviyeye çıktığı görülmüştür. Slater ve ark.larına göre sekresyon yapan müköz membran kanserlerinde IgA artar (ör : kolorektal Ca) (23). Fakat hastalık ilerledikçe IgA düşer, prognoz kötüleşir (18). Malign lenfomada, ileri evrede IgM azalır (18), ALL'de başlangıçta, kolorektal Ca'da ileri evrede IgM artar (19,23). Reid'in bir çalışmasına göre; ALL'da tanı konduktan 1 ay sonra IgG ve A seviyesi düşer, 6 ay sonra düşüş durur, IgG kısmen düzelir (13). KLL'de hastalık ilerledikçe IgG ve A düşer, kemoterapi ile düşüş artmıştır (Ben-Bassat ve ark.'ları) (3). Bizim sonuçlarımızda hastalarla kontroller arasında serum immünglobülin miktarları arasında fark yoktu ($p>0.05$).

B lenfositlerindeki yüzey immün globülinleri, lenfositlerin antijeni bağlaması için gerekli reseptörlerdir. Bu reseptörler, ikincil yanıtta antijeni tanıma görevi yaparlar (2). Malign hastalıklarda sIg'lerinin tipi ve miktarında değişiklikler olur. Bu konu, henüz inceleme safhasındadır. Burkitt lenfoma'da yüzey reseptörleri, IgM ve IgG yapısındadır, bazen çok düşük sayıdadır. Hodgkin lenfoma'da Reed Steinberg hücrelerinde IgG gösterildi (25). ALL'de sIgM çok azdır veya yoktur. AML'de sIg'leri bulunmamıştır (4,13). KLL'de sIgM miktarı azalır (25). Lenfoma hücrelerinde, yüzeyde en sık bulunan IgM dir, sonra IgG gelir .IgA seyrekdir (21,25). Sonuçlarımızda, sIg'leri G,M,A'nın her biri ve total sayı olarak hastalarda daha fazla sayıda gözlemlendi. Fakat yalnız, sIgA'daki fazlalık istatistiksel olarak anlamlı idi ($p< 0.05$). Bu konuda fazla yayına rastlanmamasına rağmen, bizim bulgumuz, elimizdeki kaynak bilgilerine ters düşmektedir. Olgular arasındaki mide barsak sistemi kanserleri, sIgA'nın yüksek çıkmasını etkilemiş olabilirler.

Lipidler ve lipoproteinlerle, E rozet ve sIg'leri arasında ;E rozet ile VLDL arasında negatif ,VLDL ile sIgA arasında pozitif bir korelasyon bulundu.

Bu bulgularla, VLDL artışının, hücrel immüniteyi baskılayabilme ihtimalinin olduğu, bunun da kanser gelişimine zemin hazırlayabileceği düşünülebilir. Son zamanlarda VLDL'de LDL gibi immünregülatör lipoproteinler sınıfına sokulmuştur (8).

Daha homojen, sitostatik tedavi öncesi ve fazla sayıda bir hasta grubunun, uzun süre izlenmesi ile bu konudaki bilgilerin, daha güvenilir sonuçlara ulaşacağına inanıyoruz.

ÖZET

Histopatolojik olarak malignite tanısı almış 31 hasta ve 20 sağlıklı kişilerde, serumda lipid elektroforezi, kolesterol, lipid, trigliserid miktarları, E rozet testi, serum immünglobülinleri seviyeleri, lenfosit yüzey immünglobülinleri incelendi.

İki grubun karşılaştırılmasında alfa lipoprotein (HDL), E rozet testi, sIgA değerlerinin hasta grupta, kontrollerden anlamlı derecede farklı olduğu bulundu.

İmmünolojik parametrelerden bazıları ile lipidler ve lipoproteinler arasında ilişki arandı. E rozet ile prebeta (VLDL) arasında negatif, VLDL ile sIgA arasında pozitif bir korelasyon bulundu. Literatürde de bunu destekleyen yayınların olması nedeniyle VLDL'nin immünodepressan olma ihtimalini düşündük.

SUMMARY

«The effect of lipids and lipoproteins on immune system in malignant diseases»

In this study, 31 patients with malignancies and 20 healthy persons were examined. Lipid electrophoresis, cholesterol, lipid, triglycerid, E rosette test, serum immunoglobulins and lymphocyte surface immunoglobulins were performed.

In patient group, alpha lipoprotein (HDL), E rosette test and sIgA were, significantly different from healthy individuals.

The correlation, between some of the immunological parameters and lipids, lipoproteins was searched. Negative correlation between E rosette and VLDL and positive correlation between VLDL and sIgA were found. Since, there are papers supporting this finding, we thought the possibility of being an immunodepressan lipoprotein of VLDL.

KAYNAKLAR

1. Barclay, M, Skipski, V.P., Terebesus-Kekish, O., Greene, M. : Effect of cancer upon high-density and other lipoproteins, *Cancer Res.* 30 : 2420-2430, 1970.
2. Bellanti, J.A. : *Immunology II.* WB Saunders Company, 1978, s : 161, 459.
3. Ben-Bassat, I., Many, A., Modan, M. : Serum immunoglobulins in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Med. Sci.* 278 : 4-9, 1979.
4. Bowman, W.P., Melvin, S., Mauer, A.M. : Cell markers in lymphomas and leukemias. *Adv. Intern. Med.* 25 : 391-425, 1980.

5. Broitman, S.A., Vitale, J.J. : Polyunsaturated fat, cholesterol and large bowel tumorigenesis. *Cancer*, 40 : 2455-2463, 1977.
6. Burchard, H. : *Chem. Zbl.* 61 : 25, 1890.
7. Chisari, F.V., Edgington, T.S. : Lymphocyte E rosette inhibitory factor : A regulatory serum lipoprotein. *J. Exp. Med.*, 142 : 1092-1105, 1975.
8. Chisari, F.V. : Immunoregulatory properties of human plasma in very low density lipoproteins. *J. Immunol.*, 199 : 2129-2135, 1977.
9. Curtiss, L.K., De Keer, D.H., Edgington, T.S. : Influence of the immunoregulatory serum lipoprotein LDL-In on the in vivo proliferation and differentiation of antigen-binding and antibody-secreting lymphocytes during a primary immune response. *Cell. Immunol.*, 49 : 1-11, 1980.
10. Curtiss, L.K., Edgington, T.S. : Immunoregulatory plasma low density lipoprotein : The biologic activity and receptor-binding specificity is independent of the neutral lipids. *J. Immunol.*, 126 : 1008-1012, 1981.
11. Durrum, E.L., Paul, M.H. and Smith, E.R.B. : *Science*. 116 : 428, 1952.
12. Edgington, T.S., Curtiss, L.K. : Plasma lipoproteins with bioregulatory properties including the capacity to regulate lymphocyte function and the immune response. *Cancer Res.*, 41 : 3786-3788, 1981.
15. Heiniger, H.J. : Cholesterol and its biosynthesis in normal and malignant lymphocytes. *Cancer Res.*, 41 : 3792-3794, 1981.
14. Huber, L.A. et al. : Immunoregulatory properties of human low and high density lipoproteins, *immunobiology*, 175 : 265-266, 1987.
15. Liebermann, C. : *Chem. Ber.* 18 : 1803, 1885.
16. Lobo, P.I., Westervett, B., Horwitz, D. : Identification of two populations of immunoglobulin-bearing lymphocytes in man. *J. Immunol.*, 114 : 116-126, 1975.
17. Nydegger, U.E., Butler, R.E. : Serum lipoprotein levels in patients with cancer. *Cancer Res.*, 32 : 1656-1760, 1972.
18. Opat, P., Kolar, V. : Humoral and cellular immunity in long term surviving patients with malignant lymphoma. *Neoplasma*, 27 : 301-305, 1980.
19. Reid, M.M., Craft, A.W. : Immunoglobulin concentrations in children receiving treatment for acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Pathol.* 34 : 479-482, 1981.
20. Royer, M.E., Ko, H. : *Anal. Biochem.* 29 : 405, 1969.
21. Royston, I., Dillman, R., Jaffe, E. : Cell-surface markers in lymphoproliferative disease. *N. Engl. J. Med.*, 21 : 1302-1304, 1981.
22. Schein, P.S. : Oncolipids?, *N. Engl. J. Med.*, 315 : 1410-1411, 1986.
23. Slater, G., Papatestas, A.E. : Serum immunoglobulins in colorectal cancer. *J. Surg. Oncol.*, 14 : 167-171, 1980.
24. Stites, D., Stobo, J, Wells, J.V. : *Basic and Clinical Immunology*, Lange Medical Publications, 1987, p : 27, 186, 249, 290.

25. Townes, A.S., Proslthwaite, A.E. : Lymphocyte surface markers in human disease. *Adv. Intern. Med.*, 22 : 97-115, 1977.
26. Waddel, C., Taunton, D. : Inhibition of lymphoproliferation by hyperlipoproteinemic plasma. *J. Clin. Invest.*, 58 : 950-954, 1976.
27. Wesselius, L.J. et al. : Lymphocyte subsets in lung cancer. *Chest*, 91 : 725-729, 1987.
28. Zöllner, N. and Kirsch, K. : *Z. ges. exp. Med.*, 135 : 545, 1962.