

SİYALİK ASİT

Ezel USLU
Şehkâr OKTAY**36.1. Tarihçe**

Siyalik asit ilk kez 1936'da İsveçli araştırmacı Gunnar Blix tarafından tükürük müsininden izole edildi ve moleküle Yunan dilinde sialos (saliva) kelimesine dayanarak siyalik asit (Sia) adı verildi. Molekül geçen yüzyılın ortalarından itibaren birçok araştırmacının ilgisi çakti; Ernst Klenk, Richard Kuhn, Tamio Yamakawa, Alfred Gottschalk, Noboro Hiyama siyalik asit ile ilgili çalışmalar yaptı. 1955'te Gottschalk siyalik asidin nöraminik asit türevi olduğunu ortaya koydu. Erwing Chargaff influenza virüsünde, Karl Meyer ise bakterilerde siyalik asit salınmasına neden olan bir enzim tespit etti; 1957 tarihinde Gottschalk bu enzime "nöraminidaz" (siyalidaz) adını verdi. 1980'de 30'dan fazla siyalik asit bilinirken bugün nöraminik asidin desamino formu olan 2-keto-3-deoksinonik asidin (Kdn) bulunması ile siyalik asit ailesinin üye sayısı 50'nin üzerine çıkmıştır.

36.2 Yapı

Siyalik asitler yaygın dağılım gösterirler, gelişmiş hayvanlarda bulunduğu gibi bazı mikroorganizmalarda da tespit edilmiştir. Siyalik asitler organizmada glikokonjugat yapılarda, N-glikan ve O-glikan terminal dallarda ve gangliozitlerde yer alır. Yapılara aktarım CMP-Sia kullanılarak siyaliltransferazlarla (ST) yapılır. Bağlantı yeri C3 ve C6 konumundaki galaktoz veya C6 konumundaki N-asetil galaktozamin kalıntılarıdır. Glikanlarda internal pozisyonda bulunan siyalik asit kalıntıları diğer siyalik asitle C8 pozisyonunda bağlanır.

Siyalik asitler 9C'lu alfa keto yapıya sahip, asidik monosakkaritler olup (Şekil1) monomerik, dimerik, oligomerik veya polimerik yapıda bulunabilirler. C-5 konumunda N-asetil (N-asetil

nöraminik asit) veya hidroksil grubu (Kdn) bulunabilir. 5-N-asetil grubu hidroksillenebilir, bu durumda N-glikolnöraminik asit (Neu5Gc) oluşur, 5-amino grubu N-asetillenmemişse nöraminik asit (Neu) meydana gelir. Dört primer Sia molekülü – 5 N-Asetil Nöraminik Asit (Neu5Ac), 5 N-Glikolil Nöraminik Asit (Neu5Gc), Kdn- C-4, C-7, C-8'de bir veya daha fazla hidroksil grubu, C-9'da O-asetil, O-metil, O-sulfat, O-laktil veya fosfat grupları taşıyabilir. Tay-Sachs hastalığında beyinde Neu5Ac'nin 1-tauryl türevi tespit edilmiştir. C-1'de bulunan karboksil grubu fizyolojik pH'da iyonize olur; hidroksil grupları ile lakton veya C-5'teki serbest amino grubu ile laktam oluşturabilir. Siyalik asitler taşıdıkları negatif yük nedeniyle birçok biyolojik işlemlerde önemli rol alır. Serbest siyalik asitler doymamış ve anhidro formda bulunur.

36.3. Adlandırma

Neu kısaltması çekirdek yapının nöraminik asit, Kdn ise 2-Keto-3-deoksinonik asit olduğunu ifade eder. Ac-asetil, Gc- glikol, Me-metil, Lt-laktil, S-sulfat yerleşimlerini gösterir. Yerleşen grupların hangi karbonlara ait olduğu da rakamlarla gösterilir (Neu5Gc). Yapı hakkında bilgi yoksa genel kısaltma Sia'dır, C9 konumunda asetil grubu içeren örnekte olduğu çok az bilgi varsa Sia9Ac kısaltması kullanılır.

Doymamış siyalik asitler ve N-asetil nöraminik asit-9-fosfat hariç diğerleri oligosakkarit, polisakkarit, glikoprotein, gangliozit ve lipopolisakkaritlerin yapısında yer alır. Neu5Ac9P Sia sentezinde oluşan ara üründür.

Üzerinde en çok çalışma yapılmış moleküller Neu5Ac ve Neu5Gc'dir. Neu5Gc hayvansal yapıda bulunur, sağlıklı insanlarda bulunmaz fakat bazı türlerde tespit edilmiştir.

Resorsinol metodu: İlk kez Svennerholm tarafından ortaya koyulmuş, daha sonra çeşitli araştırmacılar tarafından modifiye edilmiştir. Metotta önce glikokonjugat yapısındaki siyalik asit hidroliz edilir, daha sonra resorsinol ve Cu^{2+} ile renkli bileşik oluşturulur.

Tiyobarbitürik asit metodu: Periyodik asit okside edici olarak kullanılarak siyalik asitten formil pirüvik asit oluşturulur, bu molekül de tiyobarbitürik asitle pembe renkli bileşik verir. Bu metot formil pirüvik asit veren başka maddelerle interferans yapar, bu nedenle metotta çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır.

Katopodis ve Stock siyaloglikoproteinlerden ayrı olarak siyalolipit tayini için metot ortaya koymuş, daha sonra da Svennerholm bu metodu geliştirmiştir. Fakat metot siyalik aside spesifik değildir, α 1-asitglikoprotein gibi bazı maddeler interferans yaparlar.

► 36.8.2. Enzimatik Metotlar

Aralarında sonuçlar açısından önemli farklılık olmamasına rağmen enzimatik metotlar

kolorimetrik metotlara göre daha doğru sonuç verir.

N-Asetilnöraminat Piruvat Liyaz Metodu

Siyalik asit N-asetilnöraminik asit aldolaz katalizöründe parçalanarak piruvat ve N-asetil mannoz amin oluşturulur, daha sonra yapılan oksidasyon sonunda hidrojen peroksit ortaya çıkar. Hidrojen peroksit, peroksidaz varlığında renkli 4-aminoantiprin ve N-etil-N- hidroksi-etil-3-toluidin ürünlerini verir.

Kolorimetrik ve enzimatik metotlar siyalik asit çeşitleri arasındaki farkı ayırt etmez. Bu nedenle ince tabaka kromatografisi (TLC), yüksek basınçlı likit kromatografisi (HPLC), gaz-likit kromatografi, nükleer manyetik rezonans spektroskopisi, lektin ve monoklonal antikorlar kullanılır. Bu metotlar öncekilere göre çok daha güvenilir sonuçlar verir.

Son dönemlerde serbest ve total SA düzeyleri likit kromatografi-tandem kütle spektrometrisi, HPLC-elektrosprey tandem kütle spektrometrisi ve fluometrik HPLC metotları ile çok daha hassas olarak ölçülmektedir.

36.9. Kaynaklar

- Angata K, Fukuda M. Polysialyltransferases: major players in polysialic acid synthesis on the neural cell adhesion molecule. *Biochimie* 2003; 85: 195-206.
- Bardor M, Nguyen DH, Diaz S, Varki A. Mechanism of uptake and incorporation of the non-human sialic acid N-glycolylneuraminic acid into human cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 4228-37.
- Bulaia T, Bratosinb D, Ponsa A, Montreuil J, Zanetta JP. Diversity of the human erythrocyte membrane sialic acids in relation with blood groups. *FEBS Letters* 2003; 534: 185-9.
- Cho A, Malicdan MCV, Miyakawa M, Nonaka I, Nishino I, Noguchi S. Sialic acid deficiency is associated with oxidative stress leading to muscle atrophy and weakness in the GNE myopathy. *Hum Mol Genet* 2017; 26: 3081-93.
- Colley KJ, Kitajima K, Sato C. Polysialic acid: biosynthesis, novel functions and applications. *Crit Rev Biochem Mol* 2014; 49: 498-532.
- Corfield AP, Myerscough N, Warren BF, Durdey P, Paraskeva C, Schauer R. Reduction of sialic acid

O-acetylation in human colonic mucins in the adenoma-carcinoma sequence. *Glycoconjugate J* 1999; 16: 307-17.

Crook M. The determination of plasma or serum sialic acid. *Clin Biochem* 1993; 26: 31-8.

Crook MA, Earle K, Morocutti A, Yip J, Viberti G, Pickup JC. Serum sialic acid, a risk factor for cardiovascular disease, is increased in IDDM patients with microalbuminuria and clinical proteinuria. *Diabetes Care* 1994; 17: 305-10.

Go S, Sato C, Yin J, Kannagi R, Kitajima K. Hypoxia-enhanced expression of free deaminoneuraminic acid in human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 357: 537-42.

Iijima R, Takahashi H, Namme R, Ikegami S, Yamazaki M. Novel biological function of sialic acid (N-acetylneuraminic acid) as a hydrogen peroxide scavenger. *FEBS Lett* 2004; 561: 163-6.

Khalili P, Sundstrom J, Jendle J, Lundin F, Jungner I, Nilsson PM. Sialic acid and incidence of hospitalization for diabetes and its complications during 40-years of follow-up in a large cohort: the Varmland survey. *PCDE* 2014; 8: 352-7.

- Li Y, Chen X. Sialic acid metabolism and sialyltransferases: natural functions and applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 94: 887-905.
- Mahajan VS, Pillai S. Sialic acids and autoimmune disease. *Immunol Rev* 2016; 269: 145-61.
- Miyagi T, Tsuiki S. Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J Biol Chem* 1985; 260: 6710-6.
- Miyagi T, Tsuiki S. Rat-liver lysosomal sialidase. Solubilization, substrate specificity and comparison with the cytosolic sialidase. *Eur J Biochem* 1984; 141: 75-81.
- Miyagi T, Wada T, Yamaguchi K, Hata K. Sialidase and malignancy: a minireview. *Glycoconj J* 2004;20(3):189-98.
- Ogasawara Y, Namai T, Yoshino F, Lee MC, Ishii K. Sialic acid is an essential moiety of mucin as a hydroxyl radical scavenger. *FEBS Lett* 2007; 581: 2473-7.
- Prajna K, Kumar JA, Rai S, Shetty SK, Rai T, Shrinidhi, et al. Predictive value of serum sialic Acid in type-2 diabetes mellitus and its complication (nephropathy). *J Clin Diagn Res* 2013; 7: 2435-7.
- Rabinovich GA, van Kooyk Y, Cobb BA. Glycobiology of immune responses. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1253: 1-15.
- Rutishauser U. Polysialic acid in the plasticity of the developing and adult vertebrate nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 26-35.
- Sabzwari M, Ahmad M, Majeed M, Riaz M, Umair M. Serum sialic acid concentration and type-2 diabetes mellitus. *Professional Med J* 2006; 13: 508-10.
- Sato C, Kitajima K. Disialic, oligosialic and polysialic acids: distribution, functions and related disease. *J Biochem* 2013; 154: 115-36.
- Schauer R, Kamerling J. *Glycoproteins II*. Montreuil J, Vliegenthart JFG, Schachter H, editors. Elsevier, Amsterdam; 1997.
- Schauer R. Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acids. *Adv Carbohyd Chem Bi* 1982; 40: 131-234.
- Schauer R. Victor Ginsburg's influence on my research of the role of sialic acids in biological recognition. *Arch Biochem Biophys* 2004; 426: 132-41.
- Sillanauke P, Ponnio M, Jaaskelainen IP. Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. *Eur J Clin Invest* 1999; 29: 413-25.
- Takahashi K, Hosono M, Sato I, Hata K, Wada T, Yamaguchi K, et al. Sialidase NEU3 contributes neoplastic potential on colon cancer cells as a key modulator of gangliosides by regulating Wnt signaling. *Int J Cancer* 2015; 137: 1560-73.
- Varki A, Schauer R. *Sialic Acids*. Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH, Stanley P, Bertozzi CR, Hart GW, Etzler ME, editors. *Essentials of Glycobiology*. 2nd ed. Chapter 14, Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009.
- Varki A. Diversity in the sialic acids. *Glycobiology* 1992; 2: 25-40.
- Varki A. Multiple changes in sialic acid biology during human evolution. *Glycoconj J* 2009; 26: 231-45.
- Varki A. Sialic acids in human health and disease. *Trends Mol Med* 2008; 14: 351-60. 25. Shivananda Nayak B, Duncan H, Lalloo S, Maraj K, Matmungal V, Matthews F, et al. Correlation of microalbumin and sialic acid with anthropometric variables in type 2 diabetic patients with and without nephropathy. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4: 243-7.
- Wang B, Downing JA, Petocz P, Brand-Miller J, Bryden WL. Metabolic fate of intravenously administered N-acetylneuraminic acid-6-14C in newborn piglets. *Asia Pas J Clin Nutr* 2007; 16: 110-5.
- Wang J, Wu G, Miyagi T, Lu ZH, Ledeen RW. Sialidase occurs in both membranes of the nuclear envelope and hydrolyzes endogenous GD1a. *J Neurochem* 2009;111(2):547-54.
- Waters PJ, Lewry E, Pennock CA. Measurement of sialic acid in serum and urine: clinical applications and limitations. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 625-37.