

Değişik Dozlardaki Benzatin Penisilinin Eritrosit Glutasyon ve Gama Glutamil Transferaz Aktivitesi Üzerindeki Etkisi

Tülin TURAN
Nurten TÜRKÖZKAN

THE EFFECT OF PENICILLINE IN DIFFERENT DOSES ON
ERYTHROCYTE GLUTATHIONE AND GAMA GLUTAMYL
TRANSFERASE ACTIVITY

Sağlık Bakanlığı Zekai Tahir Burak Doğumevi ve
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.B.D.

Geliş Tarihi: 17 Haziran 1988
Kabul Tarihi: 25 Aralık 1989

ÖZET

Çalışmamızda 100.000, 200.000, 400.000 Ü/Kg olmak üzere permdin uygulanan 3 deney grubu ve kontrol grubu kobayların eritrosit zarlarında gama glutamil transferaz (yGT) aktivitesi ve glutasyon miktarları ölçüldü. Her 3 grupta 5 gün sonra azalmış glutasyon miktarları ve y GT aktivitesi gözlemlendi.

Bu verilerin hemotize neden olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler Glutasyon, gama glutamil transferaz, penisilin.

T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi C.8, S.2, 1990, 109-112

SUMMARY

In this study, the activity of gama glutamyl transferase (yGT) and glutathione amonuts have been measured in erythrocyte membranes of 3 expérimentât groups and control group Guinea piggi given pénicilline 100.000, 200.000, 400.000 Ü/Kg respectively. Glutathione levels and gama glutamyl transferase activities have been found to be reduced.

Key Words: Glutathione, gama glutamyl transferase, pénicilline,

TJ Research Med Sci V.8. N.2,1990,109-U2

GİRİŞ

Eritrosit yıkımı ile hücre zarı yetmezliği arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Bazı oksitleyici ajanlar hücre zarında konsantre olarak zararlıya neden olmaktadır. Hücresel glutasyonun kimyasal ajanlara karşı zararlılığının korunmasında önemli fonksiyonu olduğu ve glutasyon konsantrasyonunun meydana gelebilecek bir azalmanın zararlılığını bozacağı bildirilmiştir (1). Ayrıca glutasyon metabolizmasında önemli bir faktör olan ve hücreye amino asit transportunu sağlayan gama glutamil transferaz (7GT) aktivitesindeki değişiklikler hücrenin yaşam süresini kısaltmaktadır (2,3). Zar enzimlerinin aktiviteleri çeşitli kimyasal maddelerden etkilenmektedir (2,4-6).

Yaygın olarak kullanılan penisilin antibiyotikler içinde en az toksik olarak nitelendirilmektedir (7). Ancak yüksek dozda kullanıldığında eritrosit

zarlarının protein grupları ile sıkı bir şekilde birleşerek hemolize neden olmaktadır (8-10).

Daha önceki bir çalışmamızda deneysel olarak tek ve yüksek dozda kullandığımız penisilinin şiddetli bir hemolize neden olduğunu göstermiştik (11). Ancak yaptığımız literatür taramalarında bu hemoliz olayının glutasyon miktarları ve 7GT aktiviteleri ile olan ilgisine ilişkin bir çalışmaya rastlamadık. Bu amaçla değişik dozlarda benzatin penisilin verdiğimiz kobaylarda eritrosit zar 7GT aktiviteleri ile eritrosit glutasyon miktarlarındaki değişimlerini incelemeyi amaçladık.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda 300-400 gr. ağırlığında erkek kobaylar kullanıldı. Kontrol grubunun 15, deney grubunun her 3 grupta 15 kobay olmak üzere 45 kobay oluşturdu. I. deney grubuna 100.000 U/Kg, II. deney grubuna 200.000 U/Kg, III. deney grubuna

Tablo - I

Kontrol ve Deney Gruplarının Eritrosit Zarlarında Ortalama Gama Glutamil Transferaz Enzim Aktiviteleri (mU GGT/mg protein)

	n	X	SD		
Kontrol	15	2.992	+0.398		
I. Grup	14	2.286	+0.371	t = 4.93	p<0.01
II Grup	13	1.608	+0.340	t = 9.90	p<0.01
III. Grup	12	1.617	+0.409	= 8.76	p<0.01

Tablo - II

Kontrol ve Deney Grupları Eritrosit Glutasyon Değerleri (mg glutasyon / 100 ml Eritrosit)

	n	X	SD		
Kontrol	15	77.87	+9.43		
I. Grup	14	67.02	+8.74	t = 3.21	p<0.01
II Grup	13	57.38	+10.80	t = 5.30	p<0.01
III. Grup	12	51.38	+8.32	t = 7.74	p<0.01

400.000 U/Kg benzatin penisilin intramusküler yolla uygulandı. Kontrol grubuna aynı yolla serum fizyolojik verildi.

İlaç verilimini takiben 15. günde sabah saat 9-10 arasında kobayların önce kafalarına vurularak bayıltıldıktan sonra boyunları kesilerek 1 ml asit-sitrat dextroz içeren tüplere 6 ml kan alındı. Bu kanlar alt üst edildikten sonra bir süre buz-dolabında bekletildi. Daha sonra 3000 rpm de +4°C de santrifüj edilerek eritrositler plazmadan ayrıldı, üstteki plazma atıldıktan sonra tüp dibindeki çöken eritrositler önce üç kere +4°C deki %0.9'luk NaCl içinde hazırlanan 20 mM tris HCl (PH:7.5) çözeltisi ile yıkanarak eritrosit paketleri elde edildi.

Bu eritrosit paketleri 10 mM tris içinde hazırlanan 1 mM EDTA (PH:7.5) ile 1/14 oranında karıştırılarak hemoliz edildi. Hemolizin hazırlanması için +4°C'de bir gece bekletildi. Hemolizat 14000 rpm de santrifüj edildikten sonra dibe çöken eritrosit zarları 4 kere 10 mM tris çözeltisi (PH:7.5) ile yıkanarak elde edilen zar süspansiyonu kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı (12).

Tablo - III

Kontrol ve Deney Sonuçları İçin Bulunan Eritrosit Zarı Gama Glutamil Transferaz Aktivitesi Sonuçları (mU/mg Zar Proteini)

	Kontrol	I.Grup	IIGrup	III.Grup
1	2.95	2.50	1.56	2.20
2	2.98	2.08	1.48	1.30-
3	2.56	2.60	2.09	2.25
4	3.06	2.20	1.95	1.32
5	3.40	2.55	1.51	1.36
6	3.25	2.92	1.21	2.09
7	3.45	2.10	2.08	1.84
8	3.26	2.04	1.24	1.69
9	2.43	2.74	1.31	1.41
10	3.12	2.21	1.85	1.73
11	2.94	2.61	1.51	1.16
12	2.66	1.97	1.15	1.06
13	3.33	1.87	1.97	
14	2.1	1.62		
15	3.39			

Bu zarlarda Bovin Serum Albumininin standart olarak kullanıldığı yöntemle protein (13) glutamil nitroaniliddeki glutamil grubunun enzim katahızıyla ikinci substrat olan glisil-glisine aktarılması sonucu açığa çıkan nitroanilin sarı renginin spektrofotometrik olarak ölçümü esas alan yöntemle 7GT aktivitesi ölçüldü (14). 0.1 ml heparin üzerine alınan kanlarda ise Ernst-Beutler yöntemiyle glutasyon miktarları ölçüldü (15).

BULGULAR

Kontrol grubu ile deney grubu kobaylara ait -yGT değerleri sırasıyla ve doza bağlı olarak 2.992±0.398 (mU GGT/mg protein), I. grup 2.286±0.371 (mü GGT/mg protein), II. grup 1.608±0.340 mÜ GGT/mg protein, III. grup 1.617±0.409 mü GT/mg protein şeklindedir. Her üç grupta saptanan düşmeler anlamlı bulunmuştur (Tablo I).

Kontrol grubu ile deney grubunun eritrosit glutasyon miktarları yine sırasıyla 77.87±9.4 mg glutasyon/100 ml kan, I grup 67.02±8.74 mg glutasyon/100 ml kan, III grup 51.38±8.32 mg glutasyon/100 ml kandır. Her 3 grupta görülen glutasyon miktarlarındaki düşmeler kontrollara kıyasla anlamlıdır (Tablo II, III).

TARTIŞMA

Zara bağlı olarak çalışan -yGT enzimi glutasyonun ve diğer gama glutamil gruplarının değişik amino asitlere transferini kataliz ederek hem amino asitlerin hücreye girişinde hem de glutasyon metabolizmasında önemli rol oynamaktadır (6,16,17).

Hücre dışı sodyum konsantrasyonu da hücreye amino asit transportunda etkili olmaktadır. Kinetik analizlere göre Na iyonları amino asit transportunu artırmakta, K iyonları ise azaltmaktadır (6,18).

Benzatin penisilin aynı arayla yine kobaylarda yaptığımız bir çalışmada (Na-K) ATP az aktivitesinin azaldığını gözlemiştik (19). Durum böyle olunca hücre zarında Na-K pompası bozularak hücre için NA, Hücre dışı K konsantrasyonunun artması doğaldır, ayrıca hücreye amino asitlerin girişinin sağlandığı amino asit transport sisteminin çalışması için hücre dışı Na miktarının fazla olması gerekmektedir (16). Bu olaylar sonunda hücreye amino asit grisinin engellenmesiyle -yGT enzimi fonksiyonunu kaybederek aktivitesinde azalmalar gösterecektir. Bu gözlemler bizim 100.000, 200.000, 400.000 U/Kg benzatin penisilin kullandığımız her üç deney grubuna ait eritrosit zar -yGT aktivitesindeki anlamlı azalmaları doğrulamaktadır.

Yapılan bazı çalışmalarda penisilin otoimmün hemolitik anemi yapan ilaçlar arasında sayılmaktadır (7-10).

Başka bir çalışmada polien antibiyotiklerinin kullanılması zar geçirgenliğinde değişmelere neden olmaktadır ve lipid yüzeyleri ile etkileşmektedir (20).

Bu gözlem de bizim azalan -yGT aktivitesi sonuçlarımızı destekler durumdadır.

Bu çalışmaların dışında sonuçlarımızı doğrulamak ve desteklemek amacıyla bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlayamadık ve karşılaştırma olanağı bulamadık.

-yGT aktivitesinin azalması sonucu hücreye amino asit grisinin bozulması hücrede glutasyon yapımını engelleyecek ve dolayısıyla hücre glutasyon miktarları azalacaktır. Ayrıca redükte glutasyon miktarının azalmasını etkileyen daha birçok faktör yapılan çalışmalar sonunda saptanmıştır (21,22).

Buna ilave olarak glutasyonun yapısında bulunan sistein hücreye dışardan alınır. Bu nedenle sisteinin glutasyon sentezinde hız sınırlayıcı bir faktör olduğu düşünülmektedir (23). Penisilin metaboliti olan penisilaminin yapısal olarak sisteine benzediği ileri sürülmektedir. Bu benzerlik dolayısıyla hücreye taşınım için sisteinle yarışarak onun hücreye girmesine engel olabilir. Tüm bu görüşler bizim her üç grubumuzda da glutasyon miktarlarında gözlediğimiz, azalmaları doğrular durumdadır.

Bütün bu olayların sonucunda eritrosit fonksiyonları bozularak hücre hemolize sürüklenilecektir.

1. Kosower NS, Kosower EM: Significance of intracellular glutathione red cell structure and metabolism. Edith. Bracha. Ramot. 1971. P 16-22.
2. Palekar AG, Tate SS, Meister A: Formation of 5 exoprolin from glutathione in erythrocytes by the gama glutamyl transpeptidase-cycle transferase pathway. Proc. Nat. Acad. Sci 71(2):293-97.
3. Kalra VK, Sikka SC, Sethi GS: Transport of amino acids in gama glutamyl transpeptidase implanted human erythrocytes. J. Biol. Chem. 256 (11):5567-5571,1981.
4. Erden M, Bor N: Redükte glutasyon ve glutasyon redüktaz enziminin klinik önemi. Doğa 4 (1):24-32, 1980.
5. Rosalki SB: Gama glutamyl transpeptidase. Adv. Clin. Chem. 17:53-107,1975.
6. Lerner J: Effectors of amino acid transport processes in animal cell membranes. Comp. Biochem. Physiol. 81(4): 713-739, 1985.
7. Bowman WG, Rand MJ: Chemotherapy of bacterial infections. Textbook of Pharmacology. Sec Edit. 21-50, 1982.
8. Özer A: Pratik hematoloji laboratavur klinik ve tedavi. Ege Üniv. İzmir 271-278, 1980.
9. Berk AÖ: Eritrosit hastalıkları. GATA basımevi. 90-102, 1979.
10. Krupp MA, Chatton MJ: Hemolytic anemias. Cur. Med. Diag. Treat. Larg. Med. Publ. Les Altos, California. USA 1277-1280, 1975.
11. Türközkan N, Ancioğlu A, Özkurt Ş: Haptoglobulin-hemoglobin bağlanma kapasitesi üzerine ' 'pensilinin etkisi. Biyokimya Derg. Cilt XI, 2,914, 1986.
12. Fortes PA, Ellory JL, Lev VL: A potent ATP ase. Biochem. Biophys. Acta 318:262-72, 1973.

Değişik Dozlardaki Benzatin Penisilinin Eritrosit Glutatyon ve Gama Glutamil Transferaz Aktivitesi Üzerindeki Etkisi/TURAN, TÜRKÖZKAN

13. Lowry OH, Rosebourgh MJ, Fan AL: Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265,1951.
14. Bauer JD, Ackermann PG, Toro G: Gama glutatmyl transferase. Clin. Lab. Methods Saint Laus 8 Edt. 480-481, 1974.
15. Beutler E, Duran O, Kelly BN: Improved method for the determination of blood glutathione. J. Lab and Clin. Med. 61 (5): 882-888,1963.
16. Lehninger AL: Biochemistry, Sec Edt. Worth Publish. Newyork. 793-795,1975.
17. Stryer L: Biochemistry, Third Edt. Newyork 592-594,1986.
18. Bittar EE: Cell biology in medicine. Wileyinter Sei. Publ. 3, 106,1973.
19. Türközkan N, Turan T: Benzatin penisilinin eritrosit zar kolesterol fosfolidip ile Na-K ATP az aktivitesi üzerine etkisi. Biyokimya Derg. Cilt XIII, 2:47-51,1988.
20. Van Deenen L L M, de Gier, Demel RA: Lipid-lipid and lipid protein interaction in Model System and membranes. Ann. N.Y. Acad. Sci. 264:124-141,1975.
21. Erden M, Bor N: Changes of reduced glutathione, flutathione reductase and glutathione peroxidase after radiation in guinea pigs, Biochem Med. 31:217-227,1984.
22. Harwey JM, Kaneko JJ: Erythrocyte enzyme activities and glutathione levels of the horse, dog and man. Comp. Biochem. Physiol. 52:507-510,1975.
23. Jackson RC: Studies in the enzymology of glutathione metabolism in human erythrocyte. J. Biochem. 111:309-315, 1969.