

# Çocukluk Çağı Malign Hastalıklarında Eritrosit Sodyum-Potasyum Adenozin Trifosfataz ve Kalsiyum Adenozin Trifosfataz Aktivitesi ve Anemiyle İlişkisi

CHANGES OF ERYTHROCYTE  
SODIUM-POTASSIUM ATPase AND CALCIUM ATPase  
ACTIVITIES IN CHILDHOOD MALIGNANCIES AND ANEMIA

M. Akif ÖZDEMİR

Recep ÜÇYİĞİT

Enver HASANOĞLU

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi

Pediyatri ve Biyokimya Anabilim Dalları, KAYSERİ

Gelis Tarihi: 30 Temmuz 1985

## ÖZET

*Malign hastalıklarda sık görülen bulgulardan birisi de anemidir ve bunun oluşumundan birçok faktör sorumludur. 14 malign hastalığı olan ve 14 sağlıklı çocukta eritrosit Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz ve Ca<sup>2+</sup> ATPaz aktivitesi çalışıldı. Hastalardaki Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesi ortalama değeri kontrollerine nazaran anlamlı şekilde düşük bulunurken, Ca<sup>2+</sup> ATPaz aktivitesinde anlamlı bir fark gözlenmedi.*

*Bu bulgulara dayanarak malignanside görülen aneminin etiyolojisinde, birçok faktörün yanında eritrosit Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz düşüklüğünün de rol oynayabileceği kanısına varıldı*

**Anahtar kelimeler:** Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz, anemi, çocukluk çağı malign hastalığı

## SUMMARY

*Anemia is a regular feature of malignancy. There appears to be several mechanism each of which may contribute to a greater or lesser extent to etiology of anemia. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase and Ca ATPase activities were studied in 14 children with malignancy and in 14 healthy children. The mean value of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase activity in the patients was found to be significantly lower than that of controls: The mean difference of Ca ATPase activity was found to be insignificant like that of controls.*

*These results suggest that, among many factors, reduction of the Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> ATPase activity may play a causative role in the anemia seen in malignant disease.*

**Key words:** Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase, anemia, childhood malignancies-

T Kİ Tıp 811 Araştırma Der C.3, S.4, 345-348, 1986

T J Research MedSci V.3, UA, 345-348,1985

Eritrosit iyon ve osmotik dengesinin korunması için sodyumu hücre dışına, potasyumu hücre içine pompalayan aktif transport sistemine ihtiyaç vardır. Bu transport sistemi Adenozin Trifosfat'tan fosfor transferine (ATP'nin defosforilizasyonuna) ihtiyaç gösterir. İşte bu noktada gerekli olan ATP hidrolizinde, reaksiyonu katalize eden enzim hayvan hücrelerinin zarında yer alan sodyum-potasyuma bağımlı Adenozin Trifosfataz (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz) dir. Hücre metabolizmasındaki bir diğer önemli enzim de, hücre dışındaki konsantrasyon fazlalığına rağmen hücre içindeki kalsiyumu hücre dışına pompalayan Kalsiyum Adenozin Trifosfataz (Ca<sup>2+</sup> ATPaz) dir. Ayrıca, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz'ın düzenli çalışmasını etkileyen faktörlerden birisi kalsiyum iyonudur.

Malign hastalıklarda anemi oluşmasında birçok faktör (2, 11) etkilidir. Bu faktörler, kanamalar, ek-

siklik durumları, hemodilüsyon, hemoliz, lökoeritroblastik anemi, kemik iliği infiltrasyonu, sitotoksik ilaçlarla tedavi ve diseritropoietik anemilerdir ki bunlar da; kronik iltihapta görülene benzer anemiler, sideroblastik anemiler, eritroid hipoplazidir (1).

Malign hastalıklarda henüz mekanizması tamamen ortaya konulamamış anemi nedenlerinden hemoliz ile eritrosit Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz ve Ca<sup>2+</sup> ATPaz aktiviteleri arasında bir ilişki kurulup kurulamayacağını görmek üzere bu çalışma yapıldı.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmanın materyalini Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Da-

ında malign hastalık tanısı almış 5 kız, 9 erkek, yaşları 1-10 yıl arasında değişen 14 hasta ile aynı yaş grubunda 7'si kız, 7'si erkek toplam 14 sağlıklı çocuk oluşturuyordu.

Hasta seçiminde, daha önce hastalıkları nedeniyle tedavi ve kan transfüzyonu almamış olmalarına önem gösterildi. Hastalardan venöz kan örnekleri 20 IU/ml heparin ihtiva eden plastik tüplere, plastik enjektörle alındı. Hastaların rutin kan sayımları, hemogloblin ölçümü, periferik kan yaymaları yapıp incelendi.

Eritrosit zarlarının izolasyonu Fortes ve arkadaşlarının metoduna göre (3) yapıp -20°C'de enzim aktivitesi kaybı olmaksızın 2-3 hafta süreyle saklandı. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz aktiviteleri Hilden ve arkadaşlarının metoduna göre (6) tayin edildi.

Eritrosit zarında protein tayini Lovvry ve arkadaşlarının metoduna göre (8) tayin edilip, 1 saatteki aktivite "mg protein başına inorganik fosfor" cinsinde hesaplandı.

#### Ca<sup>++</sup> ATPaz Tayini:

Elde edilen eritrosit zarlarında Ca<sup>++</sup> ATPaz tayini için sonuçtaki konsantrasyonları aşağıdaki molaritelerde olacak şekilde karışım hesaplandı.

15 mM MgCl <sub>2</sub>	0.150 ml
80 mM Tris-HCL	0.375 ml
10 mM CaCl <sub>2</sub>	0.300 ml
Distile su	0.275 ml
20 mM ATP	0.100 ml
Enzim (eritrosit zarı)	0.300 ml

0. dakikadaki aktivite için 0.5 ml karışım, 0.5 ml soğuk % 10 TCA ile karıştırıldı. Geri kalan karışım, 37°C'de 60 dakika inkube edildi. Yine 0.5 ml soğuk % 10 TCA üzerine 0.5 ml karışım konularak proteinler çöktürüldü. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz'da olduğu gibi 0. ve 60. dakikalardaki inorganik fosfor tayin edilerek 1 saatteki aktivite mg protein başına hesaplandı.

## BULGULAR

Hasta ve kontrol gruplarının yaş, cins, hemoglobin, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz ve Ca<sup>++</sup> ATPaz değerleri detaylı olarak Tablo-I ve Tablo-II'de görülmektedir.

Hasta grubunda hemoglobin değerleri ortalaması 7.1 ± 0.7 gr/dl, kontrol grubunda ise 11.5 ± 0.2 gr/dl idi ve her iki grup ortalamaları arasındaki fark önemli bulundu (p<0.01) (Tablo-III).

Hasta grubunun Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesi ortalama değeri 0.49 ± 0.07, kontrol grubunda ise 1.17 ± 0.26 idi ve her iki grup ortalamaları arasındaki fark, istatistiki bakımdan önemli bulundu (p < 0.02) (Tablo-IV).

Hasta grubunda Ca<sup>++</sup> ATPaz aktivitesi ortalama değeri 0.50 ± 0.09, kontrol grubunda ise 0.41 ± 0.13 idi ve her iki grup ortalamaları arasındaki fark istatistiki bakımdan önemsiz bulundu (p>0.05) (Tablo-V).

## TARTIŞMA

Akut lösemi ve diğer malign hadiselerde anemi en sık görülen bulgulardan biri olup, sebebi değişik birçok mekanizmaya bağlıdır. Bu hastalarda radyoaktif maddelerle demir turnoverini ölçerek eritrosit yapım hızını ve yaşama süresini inceleyen çalışmalarda hem yapımın azaldığı ve hem de eritrosit ömrünün kısaldığı görülmüştür. Vakalarımızda bilgileri doğrular şekilde ortalama hemoglobin değerleri kontrollere nazaran önemli derecede düşük bulunmuştur (Tablo-III). Eritrosit ömrünün azalma sebebi bilinmemekte, ancak intrinsek ve ekstrinsek faktörlerle ilgili olabileceği bildirilmektedir (10).

Malign hastalıklarda immünohemolitik anemi daha çok lenfoma ve kronik lösemilerde görülür. Vakalarımızda Coombs pozitif hemolitik anemiye rastlamadık.

ATP ile eritrosit metabolizması arasındaki ilişki aktif katyon transportu (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz) ve aktif kalsiyum transportu (Ca<sup>++</sup> ATPaz) vasıtasıyla olmaktadır. ATP yokluğunda yahut kullanılmaması halinde eritrositlerde bikonkav şeklin kaybedilmesi, düzgün yüzey konturunun kaybı, kontraksiyon ve deformabilitenin azalması gibi değişiklikler görülür (9).

Buradan anlaşılacağı üzere eritrositlerdeki ATP eksikliğinde veya ATPaz enzimin çalışmaması durumunda katyon transport sisteminin tam olarak görev yapamayacağı, böylece hücre içi ile dışı arasındaki iyon gradientinin devamlılığının bozulması muhtemeldir.

Hanel ve arkadaşları bir ailede genetik geçiş gösteren Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz eksikliği ve buna bağlı nonsferositik hemolitik anemi olduğunu bildirmişlerdir (4).

Welt ve arkadaşları üremili hastaların eritrositlerinde normale nazaran yüksek konsantrasyonda sodyum olduğunu ve eritrosit içine aktif potasyum alınımında düşmeyi gösterdiler (12). Hasanoğlu ve arkadaşlarının çalışmasında diyalizden önce eritrosit içi sodyum değerlerinin diyalizden sonraki eritrosit içi sodyum değerlerinden daha yüksek, potasyum değerlerinin ise bunun tam tersi olduğu bulunmuştur (5). Üremik hastaların Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesi düşüklüğü karakteristiktir. Bu düşmenin üremideki eritrosit ömrü kısıltığı ile bağlantılı olması muhtemeldir (7).

Hastalarımızda bulduğumuz istatistiki olarak önemli eritrosit Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz aktivitesi düşüklüğünün bu hastalarda eritrosit ömrünün kısılmasına ve dolayısıyla aneminin gelişmesine yol açan sebeplerden birisi olabileceğini söyleyebiliriz.

**Tablo - I**  
**Hasta Grubunun Yaş, Cins ve Laboratuvar Bulguları**

Hasta	Yaş	Cins	Tam	Hb gr/dl	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> ATPaz Mmol	Ca <sup>++</sup> ATPaz Pi/st/mg protein
G.A.	10	E	Hepatoma	7.10	0.13	0.69
F.A.	3	E	Nöroblastom	5.50	0.78	0.74
S.K.	10	K	Wilms t.	7.90	0.30	0.34
H.Ü.	7	E	A.L.L.	10.00	0.47	0.22
G.O.	3	K	A.L.L.	5.40	0.25	0.64
A.E.	7	E	Malign Histio.	9.30	0.56	0.16
F.A.	1	E	Wilms t.	7.10	0.25	0.48
M.S.	5	E	A.M.L.	2.40	0.18	0.84
N.A.	5	E	A.L.L.	9.60	0.56	0.52
N.K.	4	K	Rabdomiyosarkom	11.20	0.63	0.42
F.K.	10	K	Malign embr. tümör	9.30	0.45	0.18
O.D.	9	E	A.L.L.	3.10	0.91	0.21
D.D.	10	K	Promyelositik L.	3.50	0.98	0.33
	5	E	Anaplastik Ca.	8.50	0.34	0.20

**Tablo - II**  
**Kontrol Grubunun Yaş, Cins ve Laboratuvar Bulguları**

Hasta	Yaş	Cins	Hemoglobin gr/dl	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> ATPaz jumol	Ca <sup>++</sup> ATPaz Pi/st/mg protein
C.Y.	5	E	10	0.75	0.11
N.D.	3	K	12	1.66	0.33
S.E.	7	K	11	0.96	0.41
CD.	6	K	11.50	0.86	0.84
M.G.	10	K	10.90	4.20	1.90
N.U.	11	K	12	0.59	0.17
M.A.	8	E	12	0.55	0.15
H.S.	5	E	11.50	1.80	0.25
M.K.	3	K	12.10	0.56	0.19
O.S.	5	E	12	0.66	0.11
E.B.	2	E	10	1.20	0.18
D.D.	5	E	10.80	1.00	0.40
M.Ö.	12	E	12.50	1.30	0.20
B.C.	9	K	12	0.31	0.46

Tablo - III

Hasta ve Kontrollarda Hemoglobin Değerleri

Gruplar	n	X ± Sx (gr/dl)	SD
Vaka	14	7.1 ± 0.7	2.8
Kontrol	14	11.5 ± 0.2	0.8

t = 5.65    p < 0.01

Tablo - IV

Hasta ve Kontrollarda Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz Değerleri

Gruplar	n	X ± Sit (/1mol Pi/st/mg protein)	SD
Vaka	14	0.49 ± 0.07	0.27
Kontrol	14	1.17 ± 0.26	0.97

t=2.53    p < 0.02

Tablo - V

Hasta ve Kontrollarda Ca<sup>2+</sup> ATPaz Değerleri

Gruplar	n	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ ( $\mu$ mol Pi/st/mg protein)	SD
Vaka	14	0.50 ± 0.09	0.35
Kontrol	14	0.41 ± 0.13	0.47

t = 0.57    p > 0.05

KAYNAKLAR

1. Crowther D, CJS Bateman: Malignant disease. Clinics in Haematology 1:447, 1972.
2. Epstein W: Membrane Transport in Biochemistry of Cell Wall and Membranes (Eds. CF Fox, B Worths), London, Vol: 2, p. 260, 1975.
3. Foster FAG, JC Elloy, VL Lew: Suramin: A potent ATPase inhibitor which acts on the inside surface of the sodium pump. Biochim. Biophys. Acta. 318:262-272, 1973.
4. Flanel HK, J Cohn: Adenosine-triphosphatase deficiency in a family with non spherocytic hemolytic anemia. Scand. J. Hematol. 9:28, 1972.
5. Hasanoğlu E, G Ciliv, O Saatçi: Studies on Na\*-K\* ATPase activity in erythrocytes of uremic patients. The effect of dialysis and transplantation. Int. J. Pediatr. Neph. 1(4):218-221, 1980.
6. fiilden S, HM Rhee, LF, Ilokin: Sodium transport by phospholipid vesicles containing purified sodium and potassium ion-activated adenosine triphosphatase. J. Biol. Chem. 249:7432-7440, 1974.
7. Katz AI, FH Epstein: Physiologic role of sodium-potassium activated adenosine triphosphatase in the transport of cations across biologic membranes. New Eng. J. Med. 278(5):253-260, 1968.
8. Lowry OH, NJ Rosebrough, AL Farr, RJ Randall: Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275, 1951.
9. Nathan DG, FA Oski: Hematology of Infancy and Childhood, W.B. Saunders Co., Philadelphia, s. 39, 1974.
10. Nathan DG, FA Oski: Hematology of Infancy and Childhood, W.B. Saunders Co., Philadelphia, s. 683-684, 1974.
11. Pasternak CA: İnsan Biyokimyasına Giriş. Çev.: Ciliv G, K Emek, A Kavas. Hacettepe Univ. Yay., öztektek Mat., s. 159-172, Ankara, 1980.
12. Welt LG, JR Sachs, TJ McManus: Ion transport defects in erythrocytes from uremic patients. Ir. A. Am. Physicians 77:169-181, 1964.