

N - NİTROZOMORFOLİN' İN SIÇAN BÖBREK LAKTAT DEHİDROGENAZ VE ALKALEN FOSFATAZ AKTİVİTELERİNE ETKİSİ

THE EFFECTS OF N - NITROSOMORPHOLINE ON RAT KIDNEY LACTATE DEHYDROGENASE AND ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITIES

Müjgan CENGİZ *

SUMMARY

The in vivo effects of N - Nitrosomorpholine (NMOR) on rat kidney lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase activities have been investigated. The two enzymes were activated by NMOR. This activations were maximum at 12th hour for alkaline phosphatase and at 24th hour for lactate dehydrogenase.

NMOR was injected in a dose of 160 mg per kg of body weight intraperitoneally. At the 6th, 12th, 18th, 24th, 30th hours of injection, kidneys were taken out and homogenised in four fold phosphate buffer. The homogenate was centrifuged at 10 000 g for 20 minutes and supernatant was used as a source of enzyme. As for controls physiological serum was injected likewise.

ÖZET

N - Nitrozomorfolin'in (NMOR) sıçan böbrek laktat dehidrogenaz ve alkale fosfataz aktivitelerine in vivo etkileri araştırılmıştır. N- Nitrozomorfolin her iki enzimi de aktive etmektedir. Bu aktivasyon alkale fosfataz enzimi için 12 . saatte, laktat dehidrogenaz enzimi için 24.saatte maksimum düzeye çıkmaktadır.

Çalışmalarda 160 mg / kg dozda intraperitoneal olarak NMOR uygulanan sıçanların böbrekleri enjeksiyonun 6., 12., 18., 24., ve 30. saatlerinde çıkarılarak ağırlıklarının dört katı fosfat tamponu ile homojenize edilmiştir. homojenat 10 000 g de 20 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Kontrol grubuna aynı şekilde serum fizyolojik enjekte edilmiştir.

* İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü,
Cerrahpaşa / İSTANBUL

GİRİŞ

Doğada yaygın olarak bulunan nitrozaminler, hem çevresel olarak organizmaya girmekte hem de memelilerin vücudunda doğal yollarla oluşarak insan sağlığı için tehlikeli durumlar meydana getirmektedirler.

Siklik bir nitrozamin olan n - nitrozomorfolinin (NMOR) oral yolla alımından sonra çeşitli organlarda iyi ve kötü huylu tümörler oluşturduğu bilinmektedir. Farelerde karaciğer ve akciğerlerde, ratlarda karaciğer, böbrek ve kan hücrelerinde, balıklarda karaciğerde tümör oluşturulmaktadır (1, 2, 3, 4). (NMOR) un kromozom kırıklarına yol açtığı saptanmıştır (5). (NMOR) fare karaciğer sitrat sentaz ve Na / K ATPaz enzimlerini inhibe etmektedir (6,7).

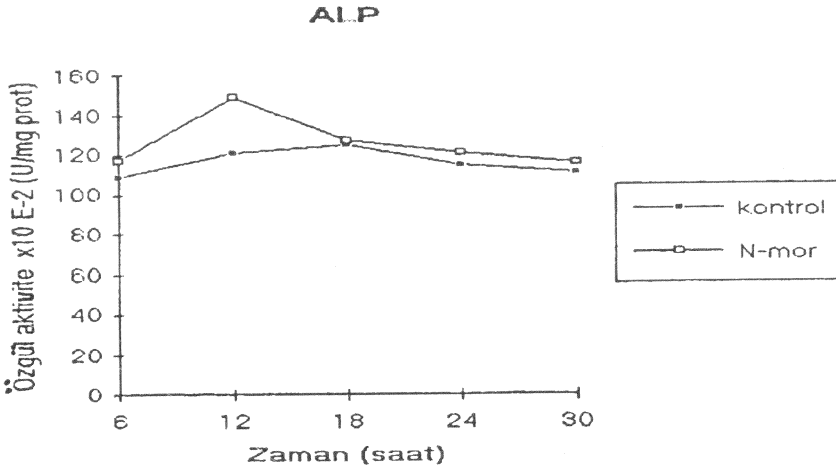
Bu çalışmada nitrozomorfolinin sıçan böbrek laktat dehidrogenaz (LD) ve alkalin fosfataz (ALP) enzimlerine etkisinin zamana karşı değişiminin in vivo olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

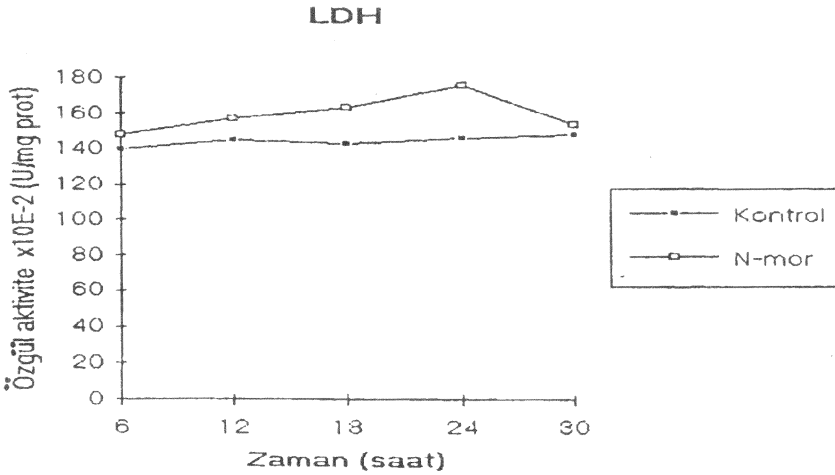
Araştırmalarımızda ağırlıkları 200 - 300 gram arasında değişen 40 adet sıçan kullanıldı. Kontrol grubuna serum fizyolojik, deney grubuna ise 160 mg / kg olacak şekilde NMOR intraperitoneal yoldan verildi. 6,12,18,24, ve 30. saatlerde hayvanlar öldürüldü, böbrekleri çıkarıldı ve 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.4) ile homojenize edildi. Homojenat 10 000 g de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant enzim kaynağı olarak kullanıldı. Enzim aktivite tayinleri Technicon RA -1000 otoanalizörde yapıldı.

BULGULAR

Sıçanlara NMOR verildikten sonra elde edilen alkalin fosfataz ve laktat dehidrogenaz aktivite düzeyleri şekil 1 ve 2 de gösterilmiştir. Kontrol grubunun ALP için özgül aktivite değerleri sırasıyla $109 \times 10E^{-3}$, $125 \times 10E^{-3}$, $125 \times 10E^{-3}$, $115 \times 10E^{-3}$, $111 \times 10E^{-3}$, U/mg protein; deney grubunun değerleri sırasıyla $117 \times 10E^{-3}$, $149 \times 10E^{-3}$, $127 \times 10E^{-3}$, $121 \times 10E^{-3}$ ve $116 \times 10E^{-3}$ olarak bulunmuştur. LD enzimi için kontrol grubu değerleri 1.40, 1.45, 1.43, 1.46 ve 1.48 U/mg protein olarak bulunmuştur. LD enziminin deney grubu değerleri ise sırasıyla 1.48, 1.57, 1.63, 1.76 ve 1.54 olarak bulunmuştur.



Şekil - 1 : Alkale fosfataz aktivite değışimleri. n - nitrozomorfolin verilen grup.



Şekil - 2 : Laktat dehidrogenaz aktivite değeri. n - nitrozomorfolin verilen grup.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada kanserojen ve mutajen bir madde olan NMOR'in sıçan böbrek homojenatlarında ALP ve LD aktiviteleri araştırılmıştır. NMOR uygulanan sıçanların böbrek ALP ve LD aktivitelerinde kontrollere göre bir artma gözlenmiştir. Bu artış ALP enziminde 12. saatte maksimum düzeyde idi. Kontrollere oranla % 23 düzeyine

çıkılmaktadır. NMOR' in LD enzimini 24. saatte maksimum düzeyde aktive ettiği saptanmıştır. Bu aktivasyon oranı kontrollerle karşılaştırıldığında % 21 düzeyinde bulunmaktadır.

Hacker ve arkadaşları tarafından sıçanlara oral yoldan NMOR verilerek yapılan bir çalışmada glukoz 6 fosfataz ve fosforilaz aktivitelerinin azaldığı, G - 6 - P dehidrogenaz aktivitesinin arttığı saptanmıştır (8).

Daha önce yaptığımız bir çalışmada intraperitoneal olarak NMOR verilen sıçanlarda böbrek aspartat transaminaz (AST) , alanin transaminaz (ALT) ve kreatin kinaz aktivitelerini incelemiş, bu nitrozaminin 12. saatte AST enzimini % 14,8, ALT enzimini % 24 oranında aktive ettiğini, ancak CK enzimini 30. saatte % 10.1 oranında ihibe ettiğini saptamıştık (9).

NMOR'in enzimlerin bazılarını aktive edip bazılarını inhibe etmesinin nedeni henüz bilinmemektedir. NMOR ve metabolitleri diğer nitrozaminler gibi proteinlerle tepkimeye girmektedirler. NMOR' in bu enzimleri aktive etme nedeni enzim yapısındaki amino asitlerle NMOR' in etkileşimleri olabileceği gibi enzim sentezini arttırması ile de ilgili olabilir. Bileşiğin her iki enzimi de aktive etmesi NMOR' in canlı sistemlerini çok hızlı bir şekilde etkilediğini göstermektedir. ALP membrana bağlı bir enzimdir ve genel olarak nitrozaminlerin hücre membranındaki enzimleri etkilemekle kalmayıp diğer membran bağlı molekülleri de değişime uğrattıkları bilinmektedir (10,11). Bu moleküllerin başında sialik asit içeren GM, GD, GT ve GQ serisinde yer alan gangliozidler gelmektedir. Bu konudaki çalışmalarımız devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. I. A. R. C. *Monographs on the evaluation on the Carcinogenic Rics of Chemicals to Humans. Some n - nitroso compounds. Vol. 17*, 263 - 280 (1978).
2. Lijinsky, W., Taylor, H. W., and Keefer, L. K. : *J. Natl. Can. Inst.*, **57**, 1311 - 1313 (1976).
3. Lijinsky, W. , Taylor, H. W. : *Cancer Res.* , **35** , 2123 - 2125 (1975).
4. Pliss, G. B. and Khudoley, V. V. : *J. Natl. Can. Inst.*, **55**, 129 - 136 (1975).
5. Kimble, C. E., Gorczyca , A. P., Reynolds, R. G. : *Mut.Res.* , **31**, 153 -161 (1975).
6. Cengiz, M., Atalay, A. : *Biyokimya Dergisi*, **15** (2), 7- 11 (1990).
7. Çetinkaya, Ö., Çetinkaya, S., Atalay, A.: *Biyokimya Dergisi* . , **2**, 1- 6 (1986).
8. Hacker, H. J., Moore, M. A., Mayer, D. , Banasch, P. : *Carcinogenesis*, **3** (11) ,1295 - 1267 (1982).

9. Cengiz, M., Cengiz, S. : *Mar. Üniv. Ecz. Der.*, 7 (2), 77 - 81 (1991).
10. Wilson, G. L. and Letter, E. H. : *Current topics in Microbiology and Immunology*, 156, 27 - 62. Springer - Verlag, Berlin, 1990.
11. Ginsberg - Fellner, F., McEvoy, R. C. : *Autoimmunity and the Pathogenesis of Diabetes*, 105 -123. Springer - Verlag, Berlin , 1990.

(Received October 13, 1993)