

UV-C IŞINLARININ BALB/C FARE PLAZMA PROTEİNLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

THE EFFECTS OF THE UV-C RADIATION ON BALB/C MICE PLASMA PROTEINS

Ersin BAYRAKTAR*

SUMMARY

In this work, the reaction of higher organisms to UV-rays on a molecular level was investigated. For this reason, the existence of a unique protein that could be the end result of this reaction was aimed to be found in mouse serum. The techniques (PAGE, SDS-PAGE, PAGE-2D, PAGIF) used in the experiments are thought to be extremely useful in such investigations as reactions of organisms to physical environmental effects.

ÖZET

Bu çalışmada yüksek organizmanın UV ışınlarına molekül düzeyde yanıtını belirlemek için, ışınlanmış fare plazmalarında tepki ürünü olabilecek başlıca bir proteinin varlığının saptanması amaçlandı. Deneylerde kullanılan PAGE, SDS-PAGE, PAGE-2D, PAGIF yöntemlerinin amaca uygun düzenlemeler yapılmış, bu gibi fiziksel etmenlere karşı organizmaların tepkisini ölçmede yararlı olacağı saptandı.

GİRİŞ

UV radyasyon genellikle dalga boyu 4-400 nm arasında olan elektromagnetik radyasyon olarak tanımlanır. Güneş UV ışınlarının doğal kaynağıdır. Güneş tarafından yayınlanan UV ışınlarının, 300 nm den küçük dalga boyu olanları atmosferde absorblanmaktadır. Atmosferin üst tabakasında UV ışınların absorblanmasından dolayı bir ozon tabakası (O₃) oluşmuştur. Son yıllarda çeşitli nedenlerle ozon tabakasında oluşan delikler dalga boyları 100-280 nm arasında olan UV-C ışınlarının yeryüzüne doğrudan gelmelerine yol açmıştır.

* Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,
Nişantaşı/İSTANBUL.

UV ışınları absorblandıkları hücre DNA'larında timin dimerlerine neden olurlar. Bu dimerlerin onarım mekanizması, yüksek organizmanın UV ışınlarına bir yanıtı olarak herbir canlıda günde binlerce kere tekrarlanan bir olaydır. Bu onarım mekanizmasındaki bozuklukların, deri kanserleri gibi bir takım biyolojik bozukluklara yol açtığı saptanmıştır (2).

Yüksek dozda ve doğrudan UV ışınlanması yüksek organizmalarda önemli fonksiyon ve hatta şekil değişikliklerine neden olur. Derinin UV ile ışınlanması sonucu genellikle periferel sinir elementleri, kapiler kan damarları ve yüzeğe yakın hücreler uyarılır. Deri içindeki fotokimyasal reaksiyonlar nedeni ile histamin, kinin gibi yüksek biyolojik aktiviteli endojenik maddeler oluşur. Bu maddeler deri içerisindeki kapiler damarları genişleterek geçirgenliklerinin artmasına neden olurlar. Bunun sonucunda proteince zengin olan plazma dokulara sızarak lokal ödem ve şişmelere neden olur. Bu olaya yanıt olarak akut faz proteinlerinin miktarlarında artma görülür. Bu proteinlere CRP, serulaplazmin, haptoglobulin, serumukoid gibi proteinler örnek olarak verilebilir. UV ışınlarının neden olduğu uyarılmaların, lizozom gibi hücre içi organellerine etki ederek lizozomal enzimlerin oluşumunu hızlandırdığı sanılmaktadır. Katabolik nitelikte olan bu enzimler, hücreler arası protein yıkımına neden olurlar.

UV-AB ışınları ile uzun süreli ışınlanan deney hayvanlarında, kemik iliğinin eritropoitik aktivitesinin uyarıldığı bilinmektedir. Bu da doku derinliğine nüfuz etme yeteneği olmayan bu ışınların, etki mekanizmasında görme sistemindeki reaksiyonla başlayan nörohumoral reaksiyon zincirlerinin önemi olduğunu göstermektedir. (6,7,9)

UV ışınları yüksek organizmaları solunum yolu ile de etkileyebilir. Bu etki UV ışınlarının organizma çevresindeki havada ozon ve nitrojen oksitler oluşturmasıyla açıklanabilir. Yüksek dozda ve kısa süreli uygulanan UV-A ışınlarının insanlar üzerinde sistemik etkileri olduğu gözlenmiştir (3).

UV ışınları bütün bu etkilerinin büyük bir kısmını, hücrede tüm fizyolojik işlevlerin sürdürülmesinden sorumlu olan proteinlerin yapısı ve fonksiyonlarını etkileyerek sürdürürler.

UV ışınlarının yüksek organizmalarda, protein sentezi, protein yıkımı, protein fraksiyonları ve proteinle ilgili işlemler üzerine etkileri hakkında, henüz çok az bilgi mevcuttur (5).

DENEYSEL ÇALIŞMA VE SONUÇLAR

Fareler 3 gruba ayrılarak günde 6 saat olmak üzere 12, 18, 24 saat $0,830 \text{ j/m}^2$ dozunda, 254 nm dalga boyunda UV-C ışınlarıyla ışınlandılar. Kontrol grubu olarak aynı farelerden ışınlanmadan önce alınan kan örnekleri kullanıldı.

Plazmadaki total protein konsantrasyonu Lowry yöntemi (4) ile mg/ml olarak; ışınlanmadan önce ($53,2 \pm 10,7$) iken 12 saat ışınlanmadan sonra ($68,4 \pm 10,3$) değerine; ışınlanmadan önce ($56,16 \pm 13,8$) iken 18 saat ışınlanmadan sonra ($63,66 \pm 11,85$) değerine; ışınlanmadan önce ($52,60 \pm 9,54$) iken 24 saat ışınlanmadan sonra ($63,80 \pm 7,15$) değerine yükseldi. 12 ve 24 saat ışınlanan gruplarda bu artış istatistiksel bakımdan anlamlı bulundu.

Plazma protein fraksiyon değerleri selüloz asetat elektroforezi yöntemi ile total alana karşı % fraksiyon alanı olarak bulundu.

Albumin fraksiyon değerleri: Işınlanmadan önce ($51,63 \pm 2,39$) iken 12 saat ışınlamadan sonra ($46,13 \pm 2,98$) değerine; ışınlamadan önce ($52,75 \pm 2,70$) iken 18 saat ışınlamadan sonra ($45,28 \pm 3,11$) değerine; ışınlamadan önce ($52,21 \pm 3,06$) iken 24 saat ışınlamadan sonra ($39,55 \pm 2,17$) değerine düştü.

Bütün gruplardaki azalışlar istatistiki bakımdan anlamlı bulundu.

α_1 - globulin fraksiyonu değerleri: Işınlamadan önce ($12,07 \pm 2,39$) iken 12 saat ışınlamadan sonra ($13,16 \pm 3,57$) değerine; ışınlamadan önce ($8,64 \pm 1,47$) iken 18 saat ışınlamadan sonra ($10,32 \pm 1,26$) değerine; ışınlamadan önce ($11,01 \pm 1,58$) 24 saat ışınlamadan sonra ($16,45 \pm 2,53$) değerine yükseldi. 18 ve 24 saat ışınlanan gruplardaki artışlar istatistiki bakımdan anlamlı bulundu.

α_2 - globulin fraksiyonu değerleri: Işınlamadan önce ($6,37 \pm 1,61$) ikeni 12 saat ışınlamadan sonra ($4,89 \pm 1,29$) değerine düştü; ışınlamadan önce ($5,02 \pm 0,66$) iken 18 saat ışınlamadan sonra ($5,49 \pm 0,84$) değerine yükseldi; ışınlamadan önce ($6,50 \pm 0,89$) iken 24 saat ışınlamadan sonra ($3,99 \pm 1,19$) değerine düştü.

24 saat ışınlanan gruptaki azalış istatistiki bakımdan anlamlı bulundu.

β -globulin fraksiyon değerleri: Işınlamadan önce (20,11 \pm 3,92) iken 12 saat ışınlamadan sonra (26,45 \pm 3,63) değerine; ışınlamadan önce (23,96 \pm 1,11) iken 18 saat ışınlamadan sonra (30,14 \pm 1,76) değerine; ışınlamadan önce (21,06 \pm 2,88) iken 24 saat ışınlamadan sonra (29,83 \pm 1,82) değerine yükseldi. Bütün gruplardaki artışlar istatistiki bakımdan anlamlı bulundu.

γ -globulin fraksiyonu değerleri: Işınlamadan önce (9,77 \pm 4,36) iken 12 saat ışınlamadan sonra (9,36 \pm 4,20) değerine düştü; ışınlamadan önce (9,57 \pm 3,77) iken 18 saat ışınlamadan sonra (8,62 \pm 3,79) değerine düştü; ışınlamadan önce (9,21 \pm 0,82) iken 24 saat ışınlamadan sonra (10,16 \pm 1,22) değerine yükseldi. Bütün gruplardaki değişimleri istatistiki bakımdan anlamsız bulundu.

Plazma proteinleri: DAVIS-PAGE yöntemi (1) ile incelendi. DAVIS-PAGE jellerinin ve bu jellere ait diyagramların incelenmesi sonucu β -globulin fraksiyonunda ışınlamadan sonra yeni bir protein batının olduğu ve bu batın UV ışınlama süresinin artmasıyla belirgenleştiği gözlemlendi. Bu proteinin molekül ağırlığı SDS-PAGE yöntemi (9) ile 77000 dalton; izoelektrik noktası PAGIF (Poliakrilamid jelde izoelektrik odaklama) yöntemi (8) ile pI= 5,2 pH olarak bulundu.

Bu bulgular UV-C ışınlarının yüksek organizmalarda protein sentez mekanizmasını etkilediğini ve yüksek organizmanın UV-C ışınlarına tepki olarak normalde sentezlemediği bir proteini sentezlediğini ya da DAVIS-PAGE jellerinde görülemeyecek kadar az sentezlediği bir proteinin sentezini hızlandırdığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Davis, B.J.: *Ann.N.Y. Acad.Sci.*, **121**, 404-427 (1964).
2. Kodama, K., Ishikawa, T., Takayama, S.: *Cancer Research*, **44**, 2150-2154 (1984).
3. Levins, P.C., Carr, D.B., Fischer, J.E.: *The Lancet*, **16**, 166 (1983).
4. Lowry, O.H.: *Bio.Chem.*, **193**, 265 (1951).
5. Mietkiewski, E., Lichota, E., Osman, M.D.: *Ann. Acad.Med.Stetin. Pol.*, **27**, 331341 (1981).
6. Mietkiewski, E., Osman, M.D., Chrobak, M.: *Ann. Acad.Med.Stetin.Pol.*, **29**, 205-213 (1983).
7. Mietkiewski, E., Osman, M.D., Legiecka. B.: *Acta.Physiol.Pol.*, **27**(6), 549-557 (1976).
8. O'Farrel, P.H.: *J.Biol.Chem.*, **250**, 4007 (1975).
9. Osman, M.D., Mietkiewski, E.: *Acta Phy.Pol.*, **33** (3), 169-177 (1982).
10. Weber, K. and Osborn, M.: *J.Biol.Chem.*, **244**, 4406-4412 (1969).

(Received June 15, 1989)