

Membran Permeabilitesine Kalsiyum ve Çinkonun Etkisi

Dr. Mustafa AYYILDIZ, Dr. Osman GENÇ, Dr. Gönül DİNÇÇAĞ,

Dr. Ahmet ALTINBAŞ, Dr. Cafer MARANGOZ.

Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı SAMSUN

✓ Bu çalışmada maya hücresi membranının temperatüre karşı dayanıklılığına kalsiyum ve çinkonun etkileri araştırıldı.

Araştırma esnasında değişik konsantrasyonlarda kalsiyum ve kalsiyum-çinko karışımından oluşan çözeltiler kullanıldı. Kalsiyum ve çinko-kalsiyum karışımından hazırlanan maya hücresi çözeltisi ortamlarına membranlardan geçemeyen %0.5'lik kongo kırmızısından 8-10'ar damla ilave edildi. Değişik temperatürlerde 30 dakika süreyle inkübasyon yapıldıktan sonra membran yapısı bozularak sitoplazmasına kongo kırmızısı giren hücrelerin yüzdesi mikroskop altında sayılarak tesbit edildi.

Elde edilen bulgulara göre kontrol grubuna oranla deney grubunda kongo kırmızısı alan hücre sayısı azaldı.

Kalsiyum ve çinkonun membran yapısında bulunan enzimlerin sentezini uyararak; protein ve glikolipidlerle yük etkileşimi yaparak koruyucu etki gösterilebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Membran geçirgenliği, Kalsiyum, Çinko

Effects of Calcium and Zinc on the Membrane Permeability

✓ In this study, the effects of calcium and zinc on the membrane of yeast cell were investigated at the high temperatures.

A variety of concentration of calcium and calcium-zinc mixed solutions were used during the experiments. 8-10 drips, 0.5% congo red were added to the yeast solution, which was made up by mixture of calcium and calcium-zinc. They were incubated for 30 min. in the different temperatures. Then, the number of cells which had congo red was counted under light microscope.

Obtained data show, that number of cell which congo red passed through their membrane was less in the experiment group than control group.

It has been concluded that calcium and zinc can show membrane protective effects by reactions with protein and glicolipids via stimulating enzyme synthesis in the membrane.

Key words: Membran Permeability, Calcium, Zinc.

Hücre membranında yapının korunması ve fonksiyonun sürdürülmesi için çinkonun gerekli olduğu bilinmektedir⁽¹⁾. Çinko, bir kısmı membran fizyolojisi bakımından da önemli olan çok sayıda enzimin yapısına katılmaktadır⁽²⁾. Çinko yetmezliğinde eritrosit membranlarında frajilitenin arttığı iyice bilinmektedir⁽³⁾. Çinko ve diğer membran stabilizatörlerinin deri yanıklarının iyileşmesinde etkili oldukları bildirilmiştir⁽⁴⁾. Hemolitik ajanların sebep

olduğu membran hasarının⁽⁵⁾ ve mikroçevrede bulunan sitotoksik maddelerin hücre membranına olan zararlı etkilerinin⁽⁶⁾ kalsiyum ve çinko tarafından önlendiği bulunmuştur. Yukarıda özetlenen bilgilerin ışığında, çinko ve kalsiyumun yükselen temperatürün tahrip edici etkisine karşı hücre membranını koruyabileceği düşünüldü. Bu amaçla maya hücresinde membranın yüksek temperatüre karşı dayanıklılığına kalsiyum ve çinkonun etkileri araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

Membranın yüksek temperatüre dayanıklılığını ve bunda kalsiyum ile çinkonun rolünü araştırmak için bira mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) hücreleri kullanıldı. Bira mayası çözeltileri (1gr/100ml) her deneyde, kuru maya kullanılarak yeniden hazırlandı.

Kontrol Deneyleri:

100 ml deiyonize suya 1 gr. bira mayası konarak hazırlanan çözeltilere, normal fonksiyonlarını devam ettiren hücre membranlarından geçemeyen %0.5'lik kongo kırmızısı çözeltilerinden 8-10 damla ilave edildi. Kongo kırmızılı çözeltiler 35°C'de 30 dakika süreyle tutuldu. Temperaturün etkisiyle membranlarında hasar oluşan ve kırmızıya boyanan hücrelerin yüzdesi binoküler ışık mikroskobu altında (x 400 büyütmeyle) hemositometrik yöntemle tesbit edildi. Aynı işlemler 40, 45, 50 ve 55°C'de tutulan çözeltiler için tekrar edildi.

Çinko ve Kalsiyum Deneyleri:

Maya çözeltileri, ortamda 0.2 mM ve 0.4 mM çinko bulunacak şekilde hazırlandı. Kalsiyumlu deneylerde ise ortamda 10 mg/dl ve 15mg/dl kalsiyum bulunmaktaydı. Kalsiyum ve çinko deneylerinde, kontrol deneyleri için anlatılan işlemler yapıldı.

Kontrol deneylerinden elde edilen sonuçlar ile çinko ve kalsiyum deneylerinden elde edilen sonuçları karşılaştırmak için Student'in "t" testi kullanıldı.

BULGULAR

Şekil 1'de deiyonize su ile çinkolu ortamlarda hazırlanan maya çözeltilerinden elde edilen sonuçların ortalaması görülmektedir. 35°C'de kontrol değeri ile çinkolu deneylerin arasında anlamlı bir fark yoktu. Çinkonun (0.2mM) 40°C'de bekletilen maya hücrelerinde membranı önemli ölçüde koruduğu tesbit edildi ($p<0.05$). 45°C'de boyanan hücrelerin yüzdesi daha azdı, fakat kontrol sonuçları ile anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). 50°C'de kontrol ortamındaki hücrelerin %20.48±3.36'sı boyanırken; 0.2 mM çinkolu ortamdaki hücrelerin %15.7±3.99'u boyandı. Aradaki fark önemlidir ($p<0.05$). 55°C'de çinkonun ko-

ruyucu etkisi önemsizdi. 60°C'de kontrol ortamındaki bütün hücreler boyandı.

Şekil 1'de kalsiyumun (10 mg/dl ve 15 mg/dl) membran dayanıklılığına olan etkisi görülmektedir. Kalsiyum 35, 40 ve 45 derecelerde koruyucu bir etki göstermedi. 50 ve 55°C'de ise hücrelerin boya almasını önemli ölçüde önledi ($p<0.01-0.001$).

Kalsiyum (10 mg/dl) ile çinko (0.2 mM) birlikte ortama konduğunda koruyucu etkisinin daha da arttığı görüldü (Şekil 1).

Bu durumda 35°C hariç çalışılan diğer sıcaklıklarda boya alan hücrelerin yüzdesi bakımından kontrol sonuçları ile deney sonuçları arasında istatistik açıdan önemli farklar vardır ($p<0.05-0.001$).

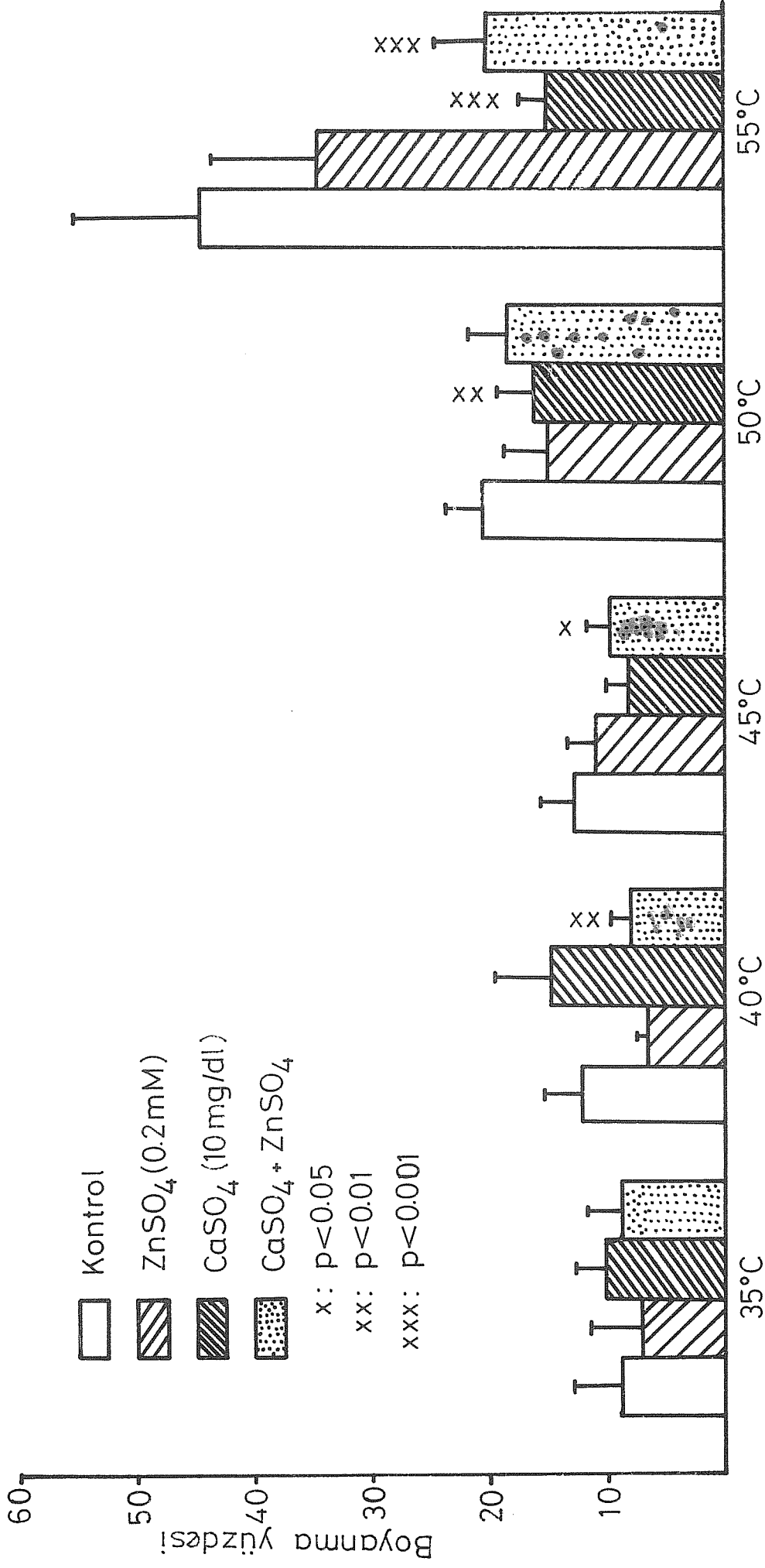
TARTIŞMA VE SONUÇ

Canlı hücre zarları kongo kırmızısının hücre içine geçmesine izin vermez. Bundan dolayı hücreler boyanmaz. Kongo kırmızısı pH 3'ün üzerinde kırmızı, daha asidik çözeltilerde mavi renk verir. Hücre içindeki pH, 3'ün üzerinde olduğundan, boyayı alan hücrelerde iç ortam kırmızı görülecektir.

Mayalar esas itibarıyla tek hücreli organizmalardır. Hücre membranının yapısında kitin de vardır. Temin edilmesi, üretilmesi ve çeşitli deney şartlarında tutulması kolay olduğundan membran fonksiyonlarına katyonların etkisini araştırmak için bira mayası seçildi. Membranlarda hasara sebep olan faktörlerden biri de termal uyarandır. Bira mayası hücreleri 35-55°C arasında çeşitli derecelerde termal uyarılara maruz bırakıldı.

Elde edilen sonuçlara göre, 0.2 mM çinko taşıyan ortamdaki maya hücreleri kontrollere göre önemli ölçüde daha az boya almaktaydılar. Kalsiyum (10 mg/dl) 50 ve 55°C'lik termal uyarılara karşı membranı önemli ölçüde korumaktaydı. Çinko ve kalsiyum birlikte verildiğinde 40-55°C arasında koruyucu etki tesbit edildi. Yani, kalsiyum ile çinko birlikte verildiklerinde koruyucu etki daha da artmakta ve yaygınlaşmaktaydı.

Çinko ve kalsiyumun koruyucu etkisinin mekanizması açık değildir. Ancak, çinkonun membranın dayanıklılığını artır-



Şekil-1 : Kontrol grubuna göre Ca, Zn ve Ca+Zn ortamlarında hücrelerin boyanma yüzdeleri

dığı⁽¹⁾, çinko yetmezliğinde eritrosit membranlarının daha fragil hale geldiği⁽²⁾, hemolitik ajanlar ile mikro çevrede bulunan sitotoksik maddelerin sebep olduğu membran hasarının çinko ve kalsiyum tarafından önlendiği^(5,6) bilinmektedir. Diğer taraftan, çinko ve diğer bazı membran stabilizatörlerinin deri yanıklarının iyileşmesinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür⁽⁴⁾. Çinko ve kalsiyum, normal membran fonksiyonlarının devamı için gereken, yüksek sıcaklıkta çabukça parçalanan enzimlerin sentezini uyararak koruyucu bir etki gösterebilir. Ayrıca, çinko ve kalsiyum membran yüzeyinde bulunan periferik proteinler, glukoproteinler ve glikolipidler ile yük etkileşimi göstererek membranı daha dayanıklı hale getiriyor olabilirler. Diğer taraftan, çinkonun N-metil D-aspartat reseptörü gibi bazı iyon kanallarını blokladığı bilinmektedir⁽⁷⁾. Yüksek sıcaklıkta iyon kanalları daha fazla açıldığından hücre membranının sızdıricılığı artar. Çinko ve kalsiyum bu kanallardan bir kısmını bloklayıp sızdıricılığı önleyebilir veya azaltabilir.

Geliş Tarihi: 23.12.1993

Yayına Kabul Tarihi: 21.1.1994

KAYNAKLAR

1. Bettger WJ, O'Dell BL. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. **Life Science** 1981; 28: 1425-1438.
2. Vallee BL., and Galdes A. The metallo-biochemistry of zinc. **Adv Enzymol Relat Mol Biol** 1984; 56: 283-430.
3. O'Dell BL., Browning ID and Reeves PG. Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. **J Nutr** 1987; 117: 1883-1889.
4. Haberal M., Mavi V., Öner G. The stabilizing effect of vitamin E, selenium and zinc on leucocyte membrane permeability, a study in vitro. **Burns Incl Therm Inj** 1987; 13: 118-122.
5. Bashford CL., Rodrigues L., Pasternak CA. Protection of cells against membrane damage by haemolytic agents, divalent cations and protons act at the extracellular side of the plasma membrane. **Biochem Biophys Acta** 1989; 24: 56-64.
6. Pasternak CA. A novel form of host defence : membrane protection by Ca²⁺ and Zn²⁺. **Biosci Rep** 1987; 7: 81-91.
7. Frederickson C. Neurobiology of zinc and zinc-containing neurons. **Int Rev Neurobiol** 1989; 31: 145-238.