

Membran Fonksiyonlarına Katyonların Etkisi

Dr. Niyazi TAŞÇI, Öğr.Gör. Mustafa AYYILDIZ, Dr. Gönül DİNÇÇAĞ, Dr. Osman GENÇ, Dr. Ahmet ALTINBAŞ, Dr. Cafer MARANGOZ

O.M.Ü. Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı

✓ Hücre membranının stabilizasyonunda çinkonun rol aldığı bilinmektedir. Bu yüzden zararlı temperatür uyarılarına karşı çinkonun ve diğer katyonların maya hücresi membranının stabilizasyonuna olan etkileri araştırıldı. Maya hücreleri için çeşitli çözelti ortamları hazırlandı. Bu çözelti ortamlarına membranlardan geçemeyen %0.5'lik kongo kırmızısından 8-10'ar damla ilave edildi. İnkübasyon bitiminde kontrol ve deney gruplarında kongo kırmızısını alan maya hücreleri binoküler mikroskop altında (x400 büyütme ile) sayılarak yüzdeleri tesbit edildi. Deney sonuçları termal uyarılara karşı iki değerlikli iyonların hücre membranının yapısını koruduğunu, tek değerlikli iyonların ise korumadığını ortaya çıkardı. İki değerlikli katyonların hücre membranındaki protein ve lipoproteinlere bağlanarak koruyucu etki gösterebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Membran Permeabilitesi, Demir, Sodyum, Çinko.

The Effects of Cations on the Function of Cell Membrane

✓ It is well known that zinc has a role in the membrane stabilization. The effects of zinc and other cation in respond to temperature stimulation on membrane stabilization of yeast cell were investigated. Several solutions were made for the yeast cells. 8-10 drips 0.5% congo red was added into solution which can not pass through the intact membrane. At the end of incubation, the rate of cell, in the experiment and control groups was obtained by counting the number of cells which was stained with congo red under the light microscope (x400). The data show that divalent cation protect the cell membrane against to temperature stimuli, while monovalent cation has no effect. It was assumed that divalent cations show their protective effects by binding membrane proteins and lipoproteins.

Key words: Membrane permeability, Iron, Sodium, Zinc.

Hücre membranında bulunan proteinlerin ve enzimlerin yapısında çinko önemli bir eleman olarak bulunmaktadır. Hücre dışı ortamdaki çinko konsantrasyonu yükselince membranın yapısındaki çinko miktarı da artarak koruyucu bir etki göstermektedir⁽²⁾. Tersine, hücre dışı ortamda çinkonun azalması, plazma membranında bulunan çinkonun da azalmasına yol açmakta, neticede membranın özellikleri değişmekte ve zararlı uyarılara karşı dayanıklılığı zayıflamaktadır⁽¹⁾.

Çinko yetmezliğinde eritrosit membranları kolaylıkla yırtılmakta⁽³⁾, sitotoksik ajanlar ve zararlı uyarılar hücre membranını kolaylıkla etkileyebilmektedir⁽³⁻⁶⁾.

Çinko hakkında bilinenlere dayanarak planladığımız bir ön araştırma, çinkonun maya hücrelerinde membranın zararlı termal uyarılara karşı olan direncini artırdığını gösterdi. Kalsiyum ile çinko birlikte

verildiğinde koruyuculuk daha da artmaktaydı. O zaman şöyle bir soru ortaya çıktı: Termal uyarılara karşı koruyuculuk bütün iki değerlikli katyonların ortak bir özelliği olabilir mi?

İşte sunulan çalışma, bu soruyu cevaplandırmak ve bir değerli katyonların da membranı termal uyarılara karşı koruyup korumadıklarını anlamak amacıyla planlandı.

MATERYAL ve METOD

Çalışmada maya hücreleri (*Saccharomyces cerevisiae*) kullanıldı. Kuru bira mayasından 1 gr. alınarak 100 ml'lik ortamlarda çözüldü. Kullanılan ortamlar şunlardı:

1. Deiyonize su ortamı
2. 100 ve 300 μ M demir ihtiva eden ortam.
3. Demir artı çinko (0.2 ve 0.4 mM) ihtiva

va eden ortam.

4. Serum fizyolojik ortamı.

5. Sodyum sülfat ortamı (145 mmol/litre).

6. Glukozlu ortam (2 g/litre)

Sıralanan ortamlara %0.5'lik kongo kırmızısı çözeltilisinden 8-10 damla ilave edildi. Hazırlanan ortamlar 30 dakika süreyle 35,40,45,50 ve 55°C'lerde bekletildi. Termal etkiyle membranları zedelenen ve kırmızıya boyanan hücrelerin yüzdesi binoküler ışık mikroskobu altında (x400 büyütme) hemositometrik yöntemle tesbit edildi.

Kontrol ortamından elde edilen sonuçlar ile diğer ortamlardan elde edilen sonuçları karşılaştırmak için Student'in "t" testi kullanıldı.

BULGULAR

Şekil 1'de deiyonize su ile demirli ortamlarda hazırlanan maya çözeltilerinden elde edilen sonuçların ortalaması yer almıştır. Kontroller ile karşılaştırıldığında 100 µM demirli ortamda tutulan maya hücrelerinin anlamlı ölçüde daha az boya aldıkları bulundu (p<0.01-0.001).

Şekil 1'de demir (100 µM) artı çinko (0.2 mM)'lu ortamda tutulan hücrelerden elde edilen sonuçlar bulunmaktadır. Kontroller ile karşılaştırıldığında, demir artı çinkonun sadece demire ve sadece çinkoya göre daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğu görüldü (p<0.001).

Şekil 2'de sırasıyla NaCl ve Na₂SO₄ bulunan ortamların sonuçları, kontrol sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Bir değerlikli iyonların membranı termal etkiden korumadığı, hatta destabilizasyona sebep olduğu tesbit edildi.

Glukozlu (2 gr/litre) ortamda tutulan hücrelerin yüzdesi ile kontrol hücrelerinin yüzdesi Şekil 2'de bulunmaktadır. Şekil 1'den glukozlu ortamdaki hücrelerin deiyonize sulu ortamdakilere göre çok anlamlı ölçüde daha fazla boyandıkları anlaşılmaktadır.

TARTIŞMA

Daha önce yaptığımız bir çalışmanın doğurduğu soruları cevaplandırmak ama-

ciyla planlanan bu araştırmaya göre:

1. Beklenenin aksine, demir termal hasara karşı hücre membranını korumaktadır.

2. Çinko ile demir birlikte verildiğinde membranların termal uyarılara karşı dirençleri daha da artmaktadır.

3. Na⁺ ve Cl⁻ gibi tek değerlikli iyonlar membranları termal uyarılara karşı korumamakta, aksine membranı daha da korumasız duruma düşürmektedir.

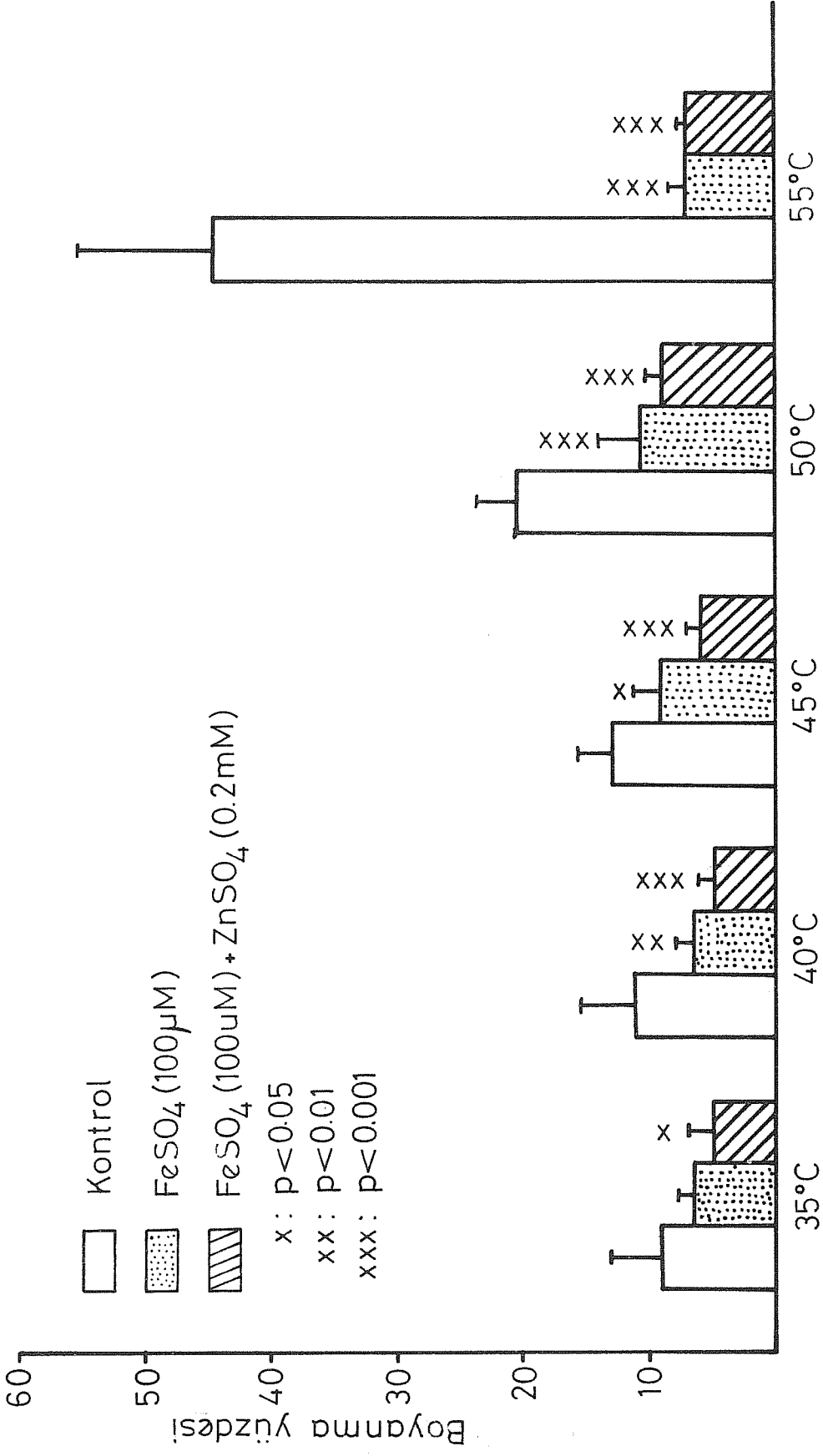
4. Ortamda maya hücrelerinin beslenip çoğalmasını sağlayan glukoz bulunduğunda, termal uyarı daha etkili olmakta ve hücre membranının destabilizasyon derecesi artmaktadır.

Demir, çinko ve kalsiyum gibi hücre membranındaki protein ve lipoproteinlere bağlanarak koruyucu bir etki gösteriyor olabilir^(1,7). Demir ile çinkonun, birlikte bulunması membranı daha ileri ölçüde korudu. Muhtemelen, demir ile çinko membrandaki proteinlerin farklı bölgelerine tutunarak bu sonucu doğurmaktadırlar.

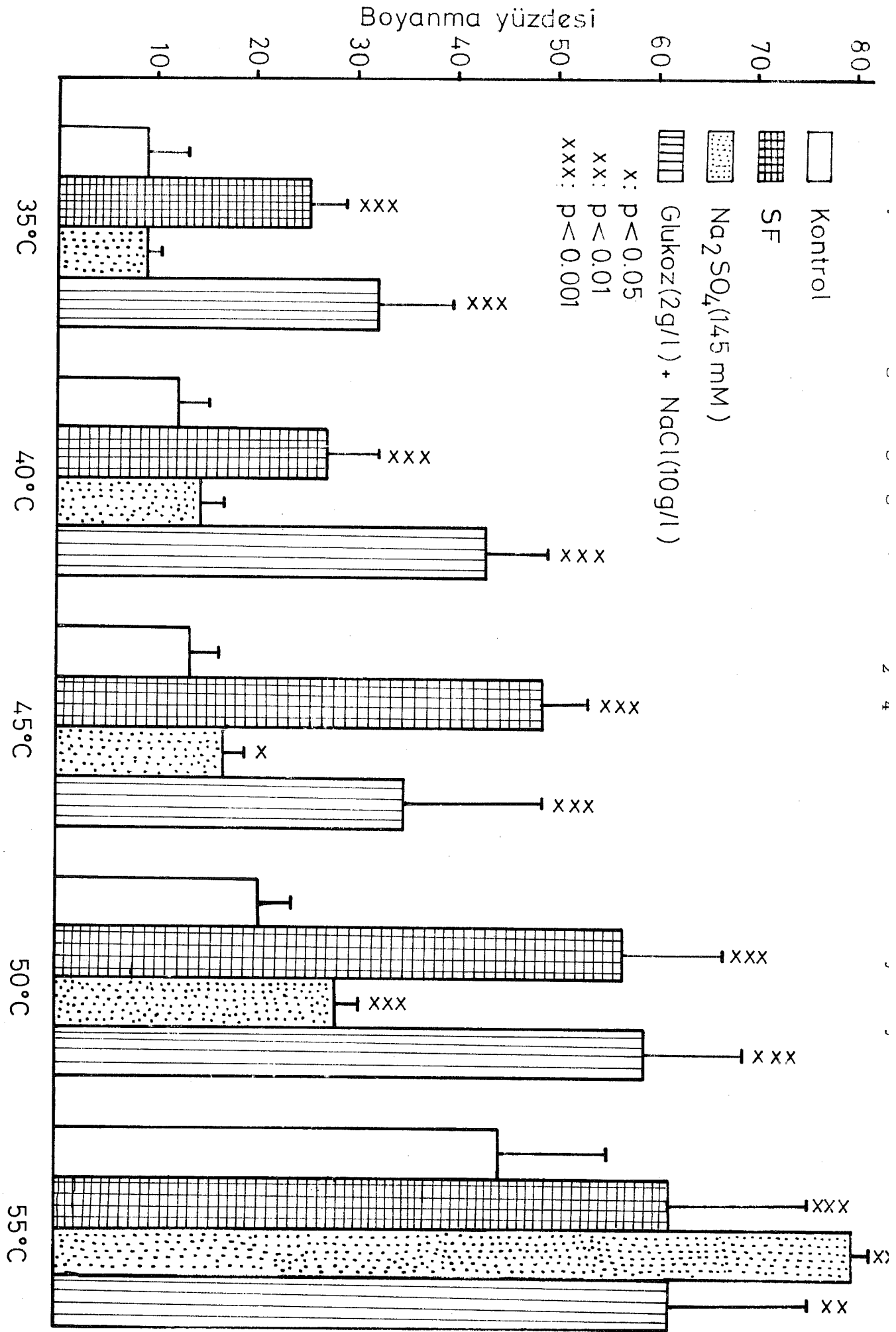
Bir değerlikli iyonların koruyucu etki göstermemesi, iki değerlikli katyonların lehine bir genelleme yapmamıza sebep olmaktadır. Muhtemelen, bütün iki değerlikli katyonlar hücre membranını termal zararlara karşı koruyucu bir özelliğe sahiptirler.

Glukozun varlığında, kongo kırmızısı girişinin artışı şimdilik izah edilememektedir. Belki de, glukoz girişi olurken membranın zararlı uyarılara olan direnci azalmakta, savunucu mekanizmalar zayıf düşmekte veya glukoz için açılan yollardan kongo kırmızısı da geçmektedir.

Görüldüğü gibi, bira mayasında hücre membranının termal uyarıların sebep olabileceği hasara karşı korunmasında iki değerlikli katyonlar önemli bir rol oynamaktadırlar. Bu sonuç, konunun daha geniş olarak araştırılabileceğini, dokulardan alınan ve kültür ortamında üretilen çeşitli hücreler üzerinde benzer çalışmaların yapılabileceğini, böylece klinik önemi olan bulgulara ulaşılabileceğini düşündürmektedir.



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



Geliş Tarihi: 23.12.1993

Yayına Kabul Tarihi: 10.01.1994

KAYNAKLAR

1. Bettger, W.J., O'Dell, B.L. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Sciences*, 28: 1425-1438, 1981.
2. Vallee, B.L., and Galdes, A. The metallobiochemistry of zinc. *Adv. Enzymol. Relat. Mol. Biol.*, 56: 283-430, 1984.
3. O'Dell, B.L., Browning, I.D., and Reeves, P.G. Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. *J.Nutr.*, 117: 1883-1889, 1987.
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* 13: 118-122, 1987.
5. Bashford, C.L., Rodrigues, L., Pasternak, C.A., 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*, 24: 56-64, 1989.
6. Pasternak, C.A. A novel form of host defence: membrane protection by Ca^{2+} and Zn^{2+} . *Biosci Rep.* 7: 81-91, 1987.
7. Prohaska, J.R. Functions of trace elements in brain metabolism. *Physiological Rev.* 67: 858-901, 1987.

