

AÇLIKTA KOBAY KARACİĞER PROTEİN MİKTARI İLE LAKTAT DEHİDROGENAZ ENZİMİNİN AKTİVİTESİNDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI

İ. H. GÖKHUN *

Açlıkta yıkılım, değişim ve yeniden sentez olayları sebebiyle organizmanın çeşitli organ ve dokularında metabolik değişiklikler olmaktadır. Vücuttaki biosentez, yıkılım ve değişim olaylarının merkezi durumunda bulunan karaciğerdeki proteinlerde ve çeşitli enzimlerde açlıkta meydana gelen değişikliklerle ilgili çalışmalar yapılmıştır (3, 10).

Bu çalışmada açlıkta kobay karaciğer protein miktarı ile total LDH ve LDH-izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal olarak ağırlıkları 410-560 gr olan erkek kobaylardan her grup için 6 şar hayvan seçildi.

Protein tayini Biuret metodu ile yapıldı. (2)

Total LDH aktivitesi Wroblewsky ve La Due'nin Kabi tarafından değiştirilmiş kinetik testi ile tayin edildi (6). Optik dansite değişimi Perkin Elmer Hitachi spektrofotometresinde 240 nm de ölçüldü.

* A. Ü. Tıp Fakültesi Biokimya ve Kimya Kürsüsü Öğretim Uyesi.

LDH'nin 5 izoenzimi selüloz asetat elektroforezi ile ayrıştırıldı. Elektroforez süresi Mikrozone elektroforez cihazında 220 volt sabit akımda 20 dakika olarak alındı. Ayrıştırılan LDH izoenzim fraksiyonları Beckman Spinco Analytrol dansitometresinde değerlendirildi.

Karaciğer homogenatlarının hazırlanması : Karaciğerin yağ, zar gibi yabancı doku kısımları ayıklandı. Makasla kesilerek küçük parçalar haline getirildi. Ağırlığının iki katı hacimde soğuk distile su ilâve edildi. Potter-Eavehjem tipi cam-cam homogenizatörle homogenize edildi. Homogenat $+4^{\circ}\text{C}$ de 3000 rpm de 20 dakika santrifüj edildi. Sediment atıldı. Süpernatanın pH sı 1 M asetik asitle 4.8 e getirildi. Bu süpernatadan 3000 rpm de tekrar 20 dakika santrifüj edildi. Sediment atıldı. Süpernatanda total çözünebilir protein miktarı, kısmen saflaştırılmış olan total LDH ve LDH izoenzimlerinin aktiviteleri tayin edildi (11).

DENEY SONUÇLARI

1. Tablo : Total protein miktarı ve LDH aktiviteleri

Gruplar	Total Protein (mg/gr Karaciğer)	Total LDH (İ.Ü./gr Karaciğer)
Kontrol	41.4	439
1. Gün	31.4	275
2. Gün	26.5	277
3. Gün	21.4	272
4. Gün	17.1	271

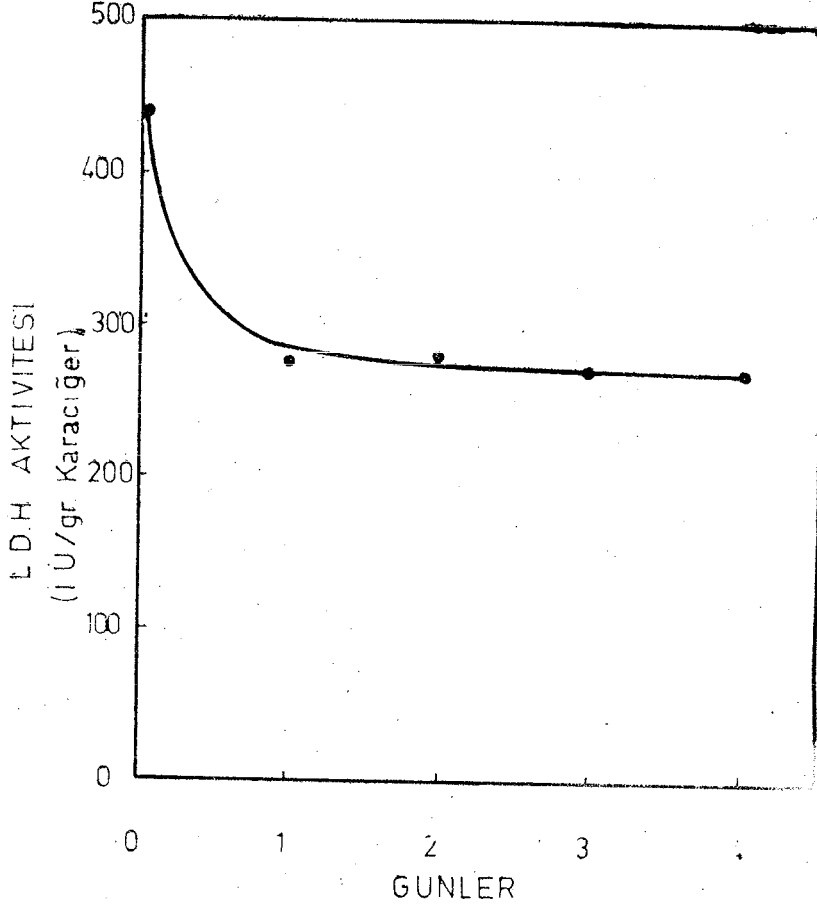
2. Tablo : LDH - İzoenzim aktiviteleri (İ.Ü./gr karaciğer)

Gruplar	LDH1 (HHHH)	LDH2 (HHHM)	LDH3 (HHMM)	LDH4 (HMMM)	LDH5 (MMMM)
Kontrol	9.1	7.2	126.3	162.8	133.6
1. Gün	6.9	22.1	73.7	102.7	69.6
2. Gün	7.1	26.7	80.0	98.2	65.0
3. Gün	7.3	15.0	87.0	95.8	66.9
4. Gün	8.2	8.2	80.5	104.5	69.6

1. Tabloda homogenatta çözünmüş total protein miktarları mg/gr yaş karaciğer dokusu cinsinden verilmiştir. Total LDH aktivitesi de internasyonal ünite (İ. Ü) / gr yaş karaciğer dokusu olarak hesaplanmıştır. 2. tablodaki LDH'nin 5 izoenziminin aktiviteleri aynı şekilde İ. Ü./gr yaş karaciğer dokusu cinsinden gösterilmiştir.

TARTIŞMA

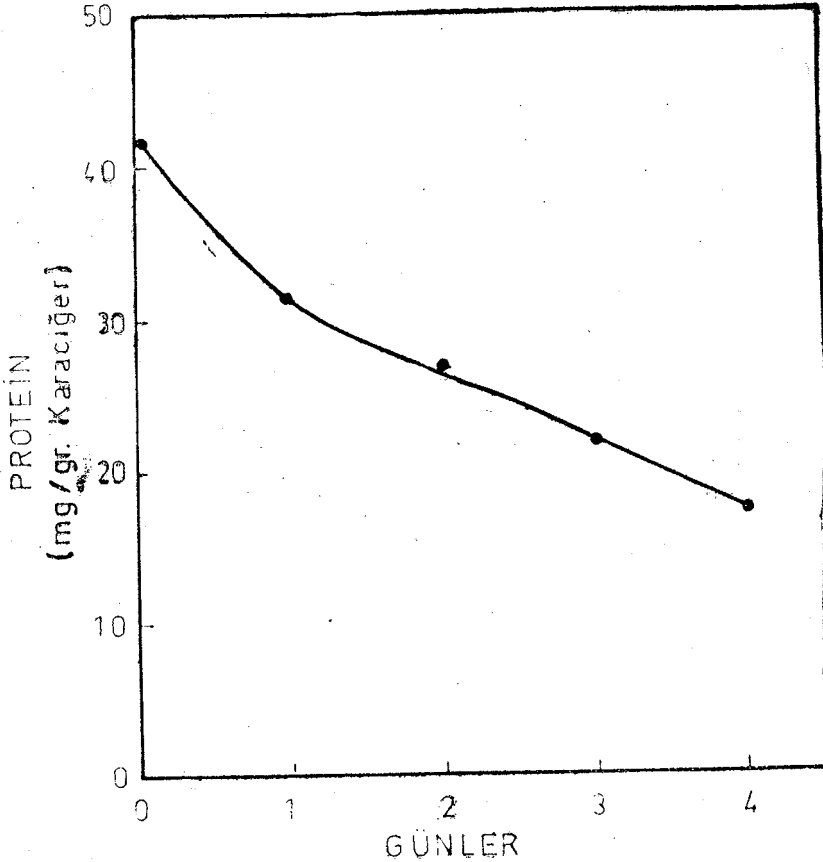
Açlıkta, karaciğer enzimlerinden glukoneogenezde rol alan glukoz 6-fosfataz, fruktoz-1,6 difosfataz, piruvat karboksilaz ve fosfoenol-piruvat kinaz'ın aktiviteleri yükselir (10). Karaciğerde direkt oksidatif glukoz yıkılımına iştirak eden glukoz -6- fosfat dehidrogenaz, 6- fosfoglukonat dehidrogenaz; glikolizde rol alan glukokinaz, fosfofrukto kinaz, piruvat kinaz ve glikogen mobilizasyonunu sağlayan fosforilaz enzimlerinin, 2 günlük açlıktan sonra, aktiviteleri normaldekinin yarısından daha aşağı düşer (3, 10)!



ŞEKİL 1 AÇLIKTA LDH AKTİVİTESİ DEĞİŞİMİ

Hem glikoliz hem de glukoneogenezde rol alan LDH aktivitesinde kontrol grubuna nazaran açlıkta bir aktivite azalmasını deneysel olarak tesbit ettik. Ancak burada açlık süresi ile aktivite değişimi arasındaki korrelasyon ($P > 0.05$) önemsizdir. (Tablo 1. ve Şekil : 1). LDH izoenzimlerinin aktivitesi de total LDH ninkine paralel olarak değişmektedir. Fakat adale ve karaciğere spesifik M alt ünitesi miktarının daha fazla olduğu LDH, LDH

Açlıkta Kobay Karaciğer protein Miktarı ile Laktat 481
Dehidrogenaz Enziminin Aktivitesinde Meydana
Gelen Değişikliklerin Araştırılması



SEKİL 2 AÇLIKTA PROTEİN MİKTARI DEĞİŞİMİ

ve LDH fraksiyonlarında aktivitenin daha çok düştüğü dikkati çekmektedir. (Tablo : 2).

Aynı deney hayvanlarının karaciğer homogenatlarında tayin edilen total çözünabilir protein miktarında hızlı ve büyük bir düşme görülmektedir. Burada açlık süresinin uzaması ile protein miktarındaki azalma arasındaki korrelasyon ($P < 0.01$) önem-

lidir. Tablo : 1 ve Şekil 2). Karaciğer proteinlerinin yarılanma süresi literatürde 5 gün olarak bildirilmektedir (1,4,5,7,8,9). Deneylerimizden elde ettiğimiz sonuçlar literatürün verdiği bilgilere uymaktadır. (Tablo : 1 ve Şekil : 2).

Açlıkta karaciğer proteinlerinde meydana gelen hızlı ve büyük bir azalmaya karşılık LDH aktivitesinde önemli bir değişikliğin tesbit edilememesi başlıca iki sebebe dayandırılabilir.

Karaciğerde LDH enzim-proteininin miktarı çözünen toplam proteinlere nazaran daha azdır (10). Bu bakımdan açlıkta LDH aktivitesinde meydana gelen değişiklikler çok dar sınırlar içinde kalmaktadır. İkinci ve en önemli sebep ise LDH enzim-proteininin yarılanma süresinin karaciğerdeki diğer proteinlerin yarılanma süresinden daha uzun olmasıdır.

Sonuç olarak bu çalışma LDH enzim-proteininin yarılanma süresinin karaciğer proteinlerinin yarılanma süresinden daha uzun olduğunu, aynı zamanda M tipi alt ünite oranının yüksek olduğu LDH izoenzim fraksiyonlarında açlıkta aktivitenin daha fazla düştüğünü ortaya koymaktadır.

Ö Z E T

Kobay karaciğer homogenatından kısmen saflaştırılmış total LDH ve LDH izoenzimleri aktivitesi ile karaciğerin çözünen total protein miktarı tayin edildi. Açlıkta total protein miktarında hızlı ve büyük bir azalma görülmesine karşılık total LDH ve LDH izoenzim aktivitelerinde önemli bir değişiklik tesbit edilememiştir.

Sonuç olarak LDH enzim-proteininin yarılanma süresinin karaciğerdeki çözünen proteinlerin yarılanma süresinden daha uzun olduğu, ayrıca M alt ünitesini daha fazla oranda ihtiva eden LDH izoenzimlerinde açlıkta aktivitenin daha çok azaldığı müşahade edilmiştir.

ZUSAMMENFASSUNG

DIE UNTERSUCHUNG DER VERAENDERUNG DER EİWEISSGEHALT-UND LDH AKTIVITAET DER BEIM HUNGER MEERSCHWEINCHENSLEBER

Es wurde Lactat Dehydrogenase aus der Leberhomogenaten der Meerchweinchen teilweise gereinigt und die Aktivitaet dieses Enzyms und Proteingehalt des gleichen Homogenats bestimmt.

Die Abnahme der Proteinen ist mit den andauernden Hungern einhergegangen. Aber die Veraenderungen der Aktivitaeten bei den gesamten LDH und LDH Isoenzymen sind sich nicht sohrasch vollzieht.

Schliesslich hat man festgestellt, dass die Halbwertzeit des LDH Enzymproteins laenger als die Halbwertzeit der gesamten löslichen Leberproteinen ist. Ausserdem hat man beobachtet, dass die Aktivitaeten der LDH Isoenzymen, die vorwiegend M Untereinheiten enthalten, sinken mehr als die H Untereinheiten enthaltene Fraktionen.

LITERATUR

1. AEBI, H.: Praktische Enzymologie, Hans Huber Verlag, Bern. 1967.
2. ANNINO, J.S.: Clinical Chemistry, Little Brown Co., Boston, 1970.
3. BOCK, H.E.: Pathophysiologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1972.
4. GREMER, H.D., J. FÜHR: Untersuchung der Organe. Hoppe-Seyler-Thierfelder Band V. Springer Verlag, Berlin, 1953.
5. FORBES, R.M., A.R. COOPER, H.H. MITCHELL: Composition of adult human body as determined by chemical analysis, J. Biol. Chem. 203, 539, 1953.
6. KABI: Serumenzymer i klinisk diagnostik, Stockholm, 1967.
7. MAURER, W.: Untersuchungen zur Grösse des Eiweissumsatzes von Plasma—und Organeiweiss, Wien Z. inn. Med, 38, 193, 1957.

8. MAURER, W.: Die Grösse des Umsatzes von Organ—und Plasmaeiweiss. Dynamik des Eiweisses 1. Springer, Berlin, 1960.
9. OHLER, T. W.: Autoradiographische Untersuchungen bei der experimentellen Aspergillose der Ratte. Grösse des Eiweissumsatzes verschiedener Zellen, untersucht mit ^{35}S markierten Thioamino-säuren. Acta Histochem. 6. 315, 1959.
10. RAPORT, S. M.: Medizinische Biochemie, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1969.
11. WACHSMUTH, E. D., G. PFLEIDERER, Th. WIELAND: Aminosäure-zusammensetzung von Isozymen der Lactat Dehydrogenase aus menschlichen-und tierischen Organen, Biochem. Z., 336, 545-550, 1963