

İRRADIYE HÜCRELERDE ZAR PERMEABİLİTESİNİN TETKİKİ VE ELDE EDİLEN SONUÇLAR

Hayatın sırrını kendi içinde saklıyan Hücre, biyolojik ilimlerin ana subjesini teşkil eder. Her hücre çeşidi, kendi içinde bulunduğu şartlar ve vazifelerine göre, az çok farklı şekiller ve dış tesirlere karşı farklı tepkiler gösterebilir. Bu kabilden olarak meselâ radyasyona karşı vücutta en hassas hücre grubunun önce cinsiyet hücreleri ve sonra da kan hücreleri olduğu noktasında ekseri yazarlar müttefiktirler. Radyasyondan hücrede ilk müteessir olan kısmın genler olduğu ve dolayısıyla mitose olayının yavaşladığı kanaati hemen genelleşmiş gibidir (1).

Umumiyetle hücrelerde nukleus, cytoplasma ve mitochondrilerin esas-taki bioşimik mekanizmaları hemen her hücrede aynıdır. Bu bioşimik olayların yürütülmesinde çeşitli fermentler rol alırlar. Bu sayede oksidasyonlar ve nukleik asid veya proteinlerin sentezleri mümkün olmakta ve mitose olayı gelişebilmektedir. Dolayısıyla, irradyasyon sonu meydana gelen bozuklukların ferment sistemlerinin tetkiki ile meydana çıkarılabileceği kanaati, bir çok araştırmacılar tarafından benimsenmiştir. Hücre çekirdeğinde nasıl genetik maddeler varsa, cytoplasma içinde de bahis konusu fermentler mevcuttur. Bu yüzden, radyasyon'un acaba hücrede önce hangi kısmı zarara uğrattığı hakkındaki soruya henüz tam cevap verilmiş değildir. Çünkü bu güne kadar yapılmış bu sahadaki araştırmalar, ya histolojik, histoşimik veya autoradiografik gibi öldürülmüş hücrelerin tetkiki veyahut da canlı hücreye çok yüksek dozlar tatbik edilerek elde olunmuş yetersiz metodlar tarzında tecelli etmiştir. HUG, KELLERER ve diğer bir grup yazar, irradyasyonda ilk tesirin cytoplasmada ve dolayısıyla hücre zarında başladığı kanaatındadırlar (1,2,3,4).

Biz de aynı kanaata iştirak ediyoruz; bahis konusu çalışmamız, bidayette Almanya'nın Münih - Neuherberg şehrinde Institut für Biologie der Gesellschaft für Strahlenforschung araştırma müessesesinde Prof. OTTO HUG ve arkadaşları ile beraber başlatılmış olup memleketimizde devam ettirilmektedir.

Deneylerimiz için bidayette Maya hücreleri (*Saccharomyces cerevisia*), Münih'de ERNST SANDVOOS firmasından her gün taze olarak alındı ve müteakiben İstanbul'da taze Kan, Zeytinburnu Etbalık Kurumu mez-bahasından yine her gün taze olarak sitrathı vasata alındı.

Maya hücreleri, isotonik eriyikler içinde 6 defa yıkanarak, üstteki yıkan-tı kısımları atıldı. Son yıkantı suyu kâğıt Chromatografisi ile denenmek suretiyle, hücrelerin tazelik kontrolü yapıldı (5).

Yıkanmış ve temiz, taze olan bu hücreler, dakikada 4000 rad'lık bir Dermopan – Rohr Röntgen cihazı vasıtasıyla muhtelif dozlarda irradiye edildi. Hücrelerden izotonik vasatlara belirli müddetler içinde karışan Aminoasid'ler, kâğıt Chromatografisinde kalitatif ve kantitatif olarak tayin olundu.

İzotonik eriyik olarak ekseriyetle Serum Fizyolojik kullanıldı. Maya hücrelerinin 1000, 2000, 3000 ve 4000 rad'lık radyasyonları sonunda, kont-rollerla ışınlananlar arasında hiç bir fark tesbit edilemedi. Fakat 5000 ilâ 10.000 rad arasındaki dozlarla belirli ayrıntılar göze çarpıyordu.

10.000 rad ile irradiye edilen maya hücrelerinden ilk 15.nci dakikada ve 1.nci ve 3.ncü saatlarda itrah olunan 9 amino asid'in total YÜZDE miktarları 1 No.lı grafikte görülmüktedir. Kontrol kıymetleri % 100 = SIFIR olarak alınmış ve irradiye deneylere aid kıymetler de normol (%) olarak resmolunmuştur. Grafikten takip edilebildiği üzere, radyasyondan 15 dakika sonra % 8 nisbetinde bir artış varken, 1 saat sonra % 29 ve 3 saat sonra da % 36 nisbetinde bir fazla amino asid itrahının mevcut oldu-ğunu tesbit etmiş bulunmaktayız.

Bu sonuçlar 182 çift analizden elde edilmişlerdir. Analizlerin 61 çifti 15 dakikalık deneylere, tekrar 61 çifti 1 saatlik ve 60 çifti de 3 saatlik ana-lizlere aid bulunuyordu. Amino – asid'lerin chromatografik tayinleri, n – Butanol – sistemi yerine sek. – Butanol – sistemi kullanılarak yapılmış-tır (5).

2 No.lı grafikte de yine aynı deneylerden tesbit edilmiş amino – asid'lerin teker teker miktarları yüzde (%) hesabıyla gösterilmiştir. Burada Cystin % 25, Lysin % 20, Glykokoll % 20, Threonin % 25, Alanin % 32 Tryptophan % 00, Methionin % 32, Valin % 12 ve Leucin % 26 nisbetin-de bir artışa sahiptirler. Bu nisbetler 1 No.lı grafikte bahsi geçen üç zaman içindeki amino – asid'lerin topluca hesabı sonunda elde edilmiştir. Haki-katte adları belirtilen amino – asitlerin miktarları, MİLİ MİKRO MOL/Gram maya hücresi (yani : mμ M/Gr Hücre) olarak bulunmuştur.

Amino – asidlerin hücrelerden ayrılma miktarlarının tesbitinden baş-ka aynı hücre çeşidinde dışarı itrah olunan bazı elektrolitler ve nükleik

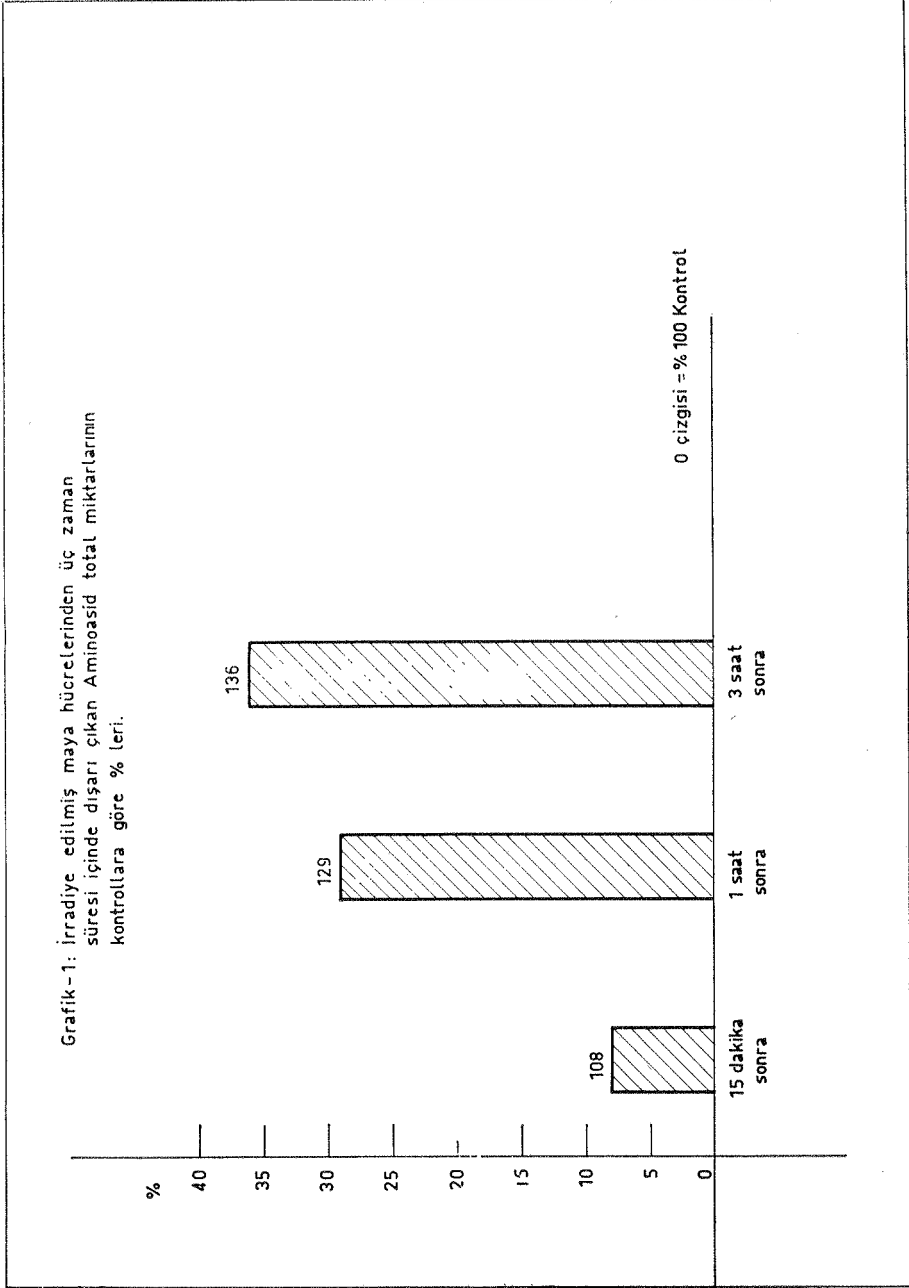
asit bazları da aranmıştır. Ancak, elektrolitlerden sadece K'un irradiasyondan 3 saat sonra Na miktarına nazaran imki misli kadar bir itrah artış farkı gösterildiği, kalitatif olarak tesbit edilmiştir. Nükleik asit bazlarından Guanin, Adenin, Thymin ve Uracil'in ise ilk saatlerde hiç bir itrah değişikliği göstermedikleri ve bir gün geçtikten sonra, kontrollere göre sadece kalitatif değerinde bir farkın ortaya çıktığı tesbit olunmuştur.

Mezbahadan her gün taze olarak getirilmiş bulunan kan, sitratlı steril solusyon içine alınmış olarak, Laboratuvara ulaştırıldıktan sonra ve pH = 7,2 - 7,3 olan serum fizyolojik ile 1/1 nisbetinde muamele ve 3 defa yıkandıktan sonra, ayrılan kırmızı kan kürecikleri Co⁶⁰ ışınlama cihazında 742 rad'lık Gamma radyasyonuna tabi tutulmuşlardır. Sonra vakit geçirmeden belirli aktivitede K⁴² izotonik klorürlü eriyik ile muamele edilip, oda ısısında 2 saat müddetle istirahatata terk olunmuş ve bu müddetin bitiminde vasattan Kan kürecikleri alınarak, sulu kısmın aktivitesi ve daha sonra da dışarı alınmış bulunan kırmızı kürecikler temiz vasatta 2 saat bekletilip yine kürecikler dışarı alınarak, adı geçen temiz vasatın aktivitesi ölçülmüştür.

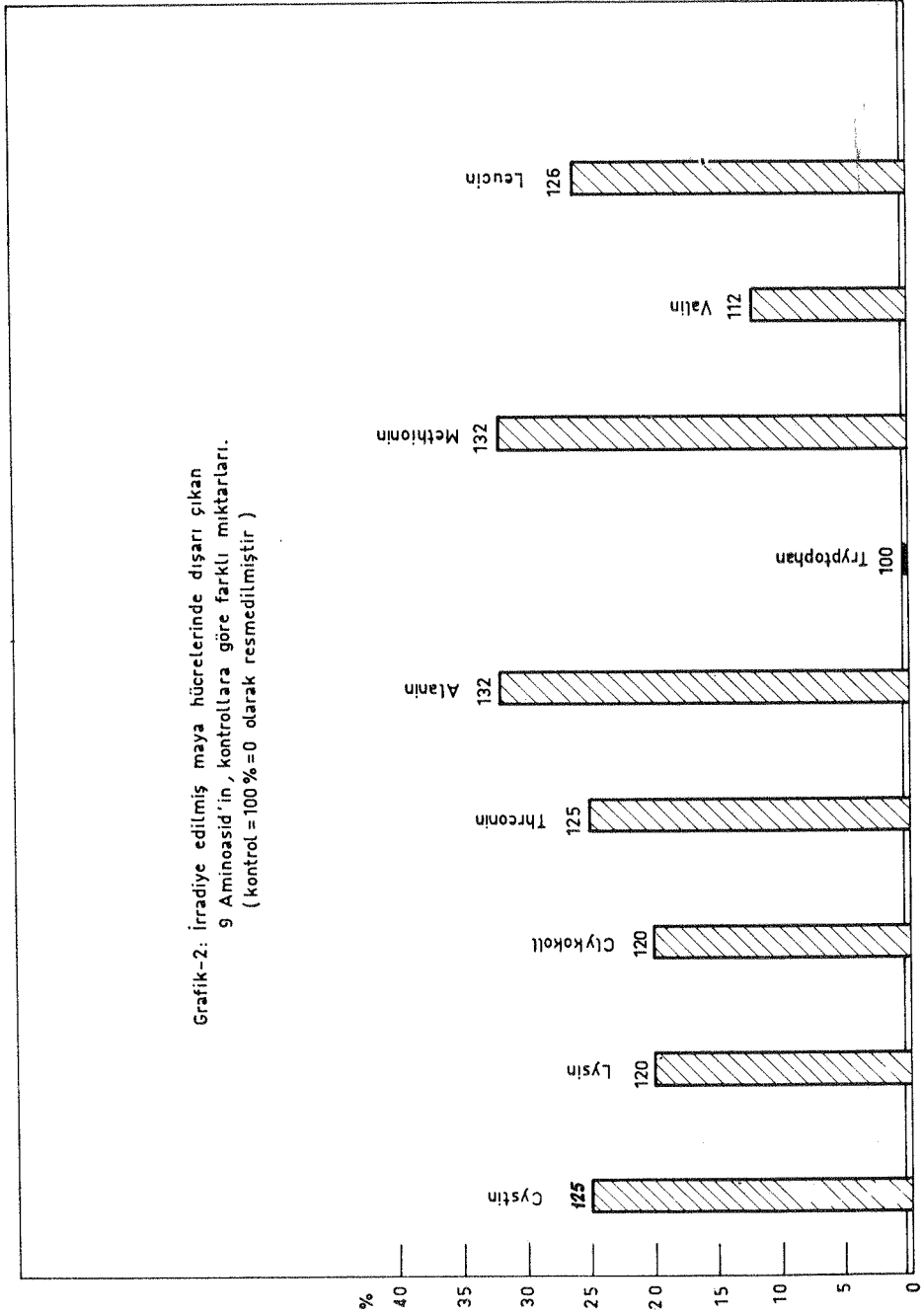
Bu suretle elde edilen sayılar göstermiştik ki, irradie hücrelerde bir permeabilite artışı mevcuttur. Nitekim, içinden KKK ri ayrılmış olan sulu kısmın aktivitesi cem'an 234 analizde ölçülmüş olup yüzde hesabıyla ve T - Kare testine göre kontrollarda % 100 olan sayının, irradie hücrelerde % 98 ze düştüğü tesbit edilmiş bulunmaktadır. Aradaki farkın her ne kadar küçük olduğu akla yakın gelmekte ise de, tatbik edilmiş bulunan radyasyon dozunun sadece memelilere aid ölüm doz'u civarında bir seviye göstermesi ve kan alınan hayvan orijinlerinin çeşitli sürü, cins ve türlere sahip bulunması gibi faktörler, bu farkın küçülmesinde etkili rol icra edebilir kanaatindeyiz. Sözü geçen vasattan çıkan KKK'nin temiz vasata alınıp bekletildikten sonra, tekrar o vasattan da ayrılarak bu ikinci vasattaki aktivitenin ölçülmesi ile elde edilen sonuçlar, bilâhare ve ayrıca neşrolunacaktır.

Sonuçların muhakemesi :

Maya hücrelerinde 10.000 rad'lık bir irradiasyon ile hemen ilk 15 dakika zarfında itrah olunan amino - asid miktarlarının artmış olduğunu ve bunun zamanla fazlalaştığını müşahede ettik. Nitekim TROSCHİN, marke edilmiş amino - asidlerin, hücre zarlarını kolayca geçebildiğini yazmaktadır(6). Bu durum bize, her ne surette olursa olsun, ya endoplazmadan açığa çıkmış bazı amino - asidlerin bulunduğunu ifade eder. 1929 da RAJEWSKY, sulandırılmış protein eriyiklerinde, irradiasyonun denatürasyon ve koagülasyona sebep olduğunu tesbit etti(7). Bu tesirin ister oda ısısında ve isterse - 180 C° olsun, aynen mevcut bulunduğu ifade olunmaktadır. Bazı müelliflerin, bunun aksine iddiaları bulunmasına rağmen



5



men, bizim bulgularımıza göre, irradiasyonun proteinler üzerine ve dolayısıyla cytoplazmaya direkt olarak tesir ettiğini ve muhtemelen yan hidrojen bağlarının parçalandığını kabul etmek, mümkün gibi görülmektedir.

Bunun yanında muhtemelen Nükleik asidlerde de bir çözülme vukua gelmiş ve fakat Nükleik asid bazlarının hücre zarından dışarı çıkışları, amino - asidlere nisbetle daha zor olduğundan, iki grup arasında farklı bir tablonun mevcudiyeti, ancak radyasyondan 1 gün sonra tesbit edilebilmiştir. Mamafih, bu hususta ayrı bir araştırma problemidir.

Maya hücrelerinde irradiasyondan 3 saat sonra dışarı çıkan K^+ miktarının, kontrollara nazaran iki misli kadar bir artma gösterdiğini görmüş olmamız, bizi işaretli potasyum ile çalışmaya sevk etti. Aynı zamanda, maya hücreleri yerine, hayvani bir hücre grubu almağı ve böylece daha ufak dozlarla deneme tasarladık. Böylece başlanan Kırmızı Kan kürecikleri ile yaptığımız deneyleri, K^{42} ilâve olunmuş vasatta bırakılan KKK nin, kontrollara nisbetle fazla K^{42} aldıklarını ve sonra bunu, aktiviteden temiz vasata, yine kontrollara nazaran fazla olmak üzere dışarı verdiklerini tesbit ettik.

Bu sahada birçok araştırmacılar, bizim bulgularımızı teyit etmekte ve radyasyon tesiriyle hücre zar permeabilitesinin arttığına inanmaktadırlar. Bizim kanaatımıza göre, hem hücre zar permeabilitesinin artması ve hem de hücredeki aktif transport mekanizmasının bozulması sonunda, hücre permeabilitesi sadece passif transport ve membran potansiyeli ile idare edilmektedir. Bu ise, tatbikatta bir nevi ve yalnız hücre zar permeabilitesinin artışı imiş gibi görünmektedir.

ÖZET

Saccharomyces cerevisia hücreleri 10.000 rad'lık röntgen ışınlarına tabi tutuldu. Bu hücrelerden dışarı itrah olunan amino - asid miktarları kâğıt kromatografisi ile tayin edildi. İrradiye edilen hücrelerden itrah olunan amino - asid miktarlarının, radyasyondan 15 dakika sonra % 8,1 saat sonra % 29 ve 3 saat sonra % 36 nisbetinde yüksek olduğu görüldü. Bundan başka, 742 rad ile irradiye edilen Erythrocytlerde ise, Gamma radyasyonuna tabi tutulan hücrelerde K^{42} absorptionunun, radyasyondan 2 saat sonra % 2 nisbetinde arttığı müşahede olundu. Bu neticeler vasıtasıyla, hücrelerin gerek cyto ve gerekse ekto plazmaları ve aynı zamanda $Na^+ - K^+$ pompası denen mekanizmaları (muhtemelen ATP - ase enziminin zedelenmesi suretiyle) hakkında, irradiasyondan zarar görmüşlerdir, tarzında bir karara varmak mümkündür.

ZUSAMMENFASSUNG

Saccharomyces cerevisia Zellen wurden durch 10.000 rad bestrahlt. Die austretende Aminoäuren von Hefezellen wurden papierchromatografisch

bestimmt. Es ist nachgewiesen, dass die austretende Aminosäuremenge von bestrahlten Zellen p.r. in 15 Minuten 8 %, in 1 Stunde 29 % und in 3 Stunden 36 % höher als die Kontrolle sind.

Bei Erythrocyten nach 742 rad Gammabestahlung 2 Stunden p.r. wurde eine Zunahme von K⁴² Ionenabsorption der Zellmembran, der bis 2 % als Kontrolle ist, festgestellt.

Durch diese Ergebnisse kann man obwohl über Cyto- und Ektoplasma als auch Na⁺ — K⁺ Pumpe (wahrscheinlich durch ATP — ase Zerstörung) eine solche Beurteilung zu haben, daß alle drei vom Radiation teilweise beschädigt sind.

LİTERATÜR

1. FEİNE, U. und HUG, O. — Wissenschaftliche Grundlagen des Strahlenschutzes. Hsg.: B. Rajewsky. Verl. G. Braun. Karlsruhe, (1957).
2. HUG, O. und KELLERER, A.M. — Stochastik der Strahlenwirkung. Spring. Verl., Berlin (1966).
3. HUG, O. — Biologische Sofortreaktionen auf schwache Strahlendosen. In. IX th International Congress of Radiobiology, V. 2, Hsg.: B. Rajewsky. G. Thieme Verl. Stuttgart (1961).
4. ALTMANN, H. — Frühschaden in Zellen nach ionisierender Bestahlung. Biophysik 1, 329 — 330 (1964).
5. YEGİN, M.M. — Einige neue Laufmittel mit sek. — Butanol — statt n — Butanolsystem zum Nachweis von Aminosäuren in der Papierchromatographie. Türk Biol. Dergisi, C.18, Sayı 2 (1968).
6. TROSCHEIN, A.S. — Das Problem der Zellpermeabilität. Veb Güstav Fischer Verl., Jena (1958).
7. NİGGLİ — FRITZ, H. — Strahlenbiologie. Georg Thieme Verl., Stuttgart (1959).