

TÜRKİYE ATOM ENERJİSİ KURUMU
ÇEKMECE NÜKLEER ARAŞTIRMA VE EĞİTİM MERKEZİ

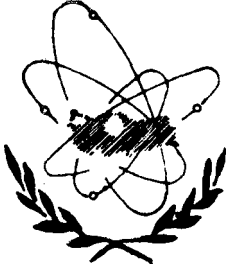
TR—14

**İYONLAŞTIRICI IŞINLARIN in vivo VE in vitro SERUM
ALBUMİNİNE ETKİSİ**

Selma PORTAKAL
Radyobioloji Bölümü

Mart, 1984

P. K. 1, Hava Alanı, İstanbul



TÜRKİYE ATOM ENERJİSİ KURUMU
ÇEKMECE NÜKLEER ARAŞTIRMA VE EĞİTİM MERKEZİ

TR—14

**İYONLAŞTIRICI IŞINLARIN in vivo VE in vitro SERUM
ALBUMİNİNE ETKİSİ**

Selma PORTAKAL
Radyobioloji Bölümü

Mart, 1984

P. K. 1, Hava Alanı, İstanbul

İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

Türkçe ve İngilizce Özetler.....	
GİRİŞ.....	1
MATERYEL VE METOD.....	3
Metod 1-Deney Hayvanlarının Röntgen Cihazında Işınlanması.....	3
Metod 2-Serum Albuminin ⁶⁰ Co Kaynağında Gamma Işınlanması.....	3
Metod 3-Kandan Serumun Ayrılması.....	4
Metod 4-Sellüloz Asetat Kağıt Elektroforezi.....	4
Metod 5-Serum Fraksiyonunda Albumin Yüzdesinin Saptanması.....	4
Metod 6-Pre-Albumin ve Albumin Oranın Saptanması.....	5
Metod 7-Serum Albuminin Elektroforetik Mobilitesinin Tayini.....	5
Metod 8-Gamma Işınlamasına Tutulan Albuminin UV Absorpsiyon Spektrumunun İncelenmesi.....	5
Metod 9-Gamma Işınlamasına Tutulan Albuminin Agregasyonunun İncelenmesi	6
BULGULAR	
1(A) In vivo Işınlamadan Elde Edilen Bulgular.....	6
1(B) Serum Albuminin in vitro ⁶⁰ Co Kaynağında Gamma Işınlamasından Sonra Elde Edilen Bulgular.....	8
MÜNAKAŞA.....	9
KAYNAKLAR.....	13

ÖZET

İyonlaştırıcı ışınların serum albuminine etkisi in vivo ve in vitro deneylerle araştırıldı.

İn vivo deneylerde erkek sıçanlar(*Rattus norvegicus*) 225 röntgen bütün-vücut X-ışınlamasına tutuldu. Radyasyonun zamana bağlı olarak albumin seviyesine etkisi ışınlamadan hemen, 2.5 saat ve üç gün sonra incelendi. Albumin seviyesi ışınlamadan 2.5 saat sonra kontrol seviyesinin altına düştü, ışınlamadan üç gün sonra ise kontrol seviyesine ulaştı. Pre-albumin/albumin oranında ışınlamadan sonra artma oldu.

İn vitro deneylerde yüzde 0.5 sulu albumin çözeltisi 0.2, 0.5, 1.0 ve 1.9 Mrad dozlarda ^{60}Co gamma ışınlamasına tutuldu. Deneyler serum albuminin elektroforetik mobilitesinin ışınlamadan sonra azaldığını gösterdi. Serum albuminin 0.2, 0.5, 1.0 ve 1.9 Mrad dozlarında in vitro ışınlaması UV absorpsiyon spektrumunda bir değişiklik meydana getirmedi. Serum albumini ışınlamadan sonra suda daha az çözünür hale geldi. Radyasyon albumin molekülünde agregatlar ve bölünme ürünleri meydana getirdi.

ABSTRACT

The effect of ionizing radiations on rat serum albumin was studied on in vivo and in vitro.

Male rats(*Rattus norvegicus*) were exposed to 225 roentgen whole-body X-irradiation on in vivo experiments. Time-course effects of irradiation on albumin level examined at immediately, 2.5 hours and 3 days after irradiation. Albumin level decreased above control level 2.5 hours after irradiation and rised within 3 days reaching control level. Pre-albumin/albumin ratio enhanced after X-irradiation.

Aqueous solutions(0.5 percent) of rat serum albumin was exposed to various doses(0.2, 0.5, 1.0 and 1.9 Mrad) of ^{60}Co gamma irradiation on in vitro experiments. Results showed that electrophoretic mobility of serum albumin decreased after gamma irradiation. No significant change in albumin UV absorption spectrum was observed at 0.2, 0.5, 1.0 and 1.9 Mrad doses. Albumin becomes progresively less soluble in water as the radiation doses is increased. Radiation induced transformation into insoluble albumin agregates and scission products.

GİRİŞ

Kanda çok önemli görevi olan proteinlerden biri de serum albumini-
dir. Serum albuminin biyolojik fonksiyonları üç grup altında toplana-
bilir. Bunlardan ilki, plazmanın kolloid osmotik baskısını regüle
etmesidir. İnsan plazma proteinlerinin ağırlık olarak yüzde elli
kadarını albumin teşkil eder. Teorik olarak osmotik baskı plazmada-
ki albumin konsantrasyonu ile orantılı olması gerekirken, plazmanın
osmotik baskısının yüzde 75-80 kadarı albuminden ileri gelir. Albumin
molekülü üzerindeki hidrofilik grupların herbiri etrafında su mole-
küllerinin toplanması, onun nötral bir molekülden daha büyük bir osmo-
tik baskı yapmasına neden olur(1). Serum albuminin ikinci fonksiyonu
çeşitli metabolitlere bağlanarak kanda taşıyıcı görevi yapmasıdır.
Albumin bilirubin(2,3), yağ asitleri(4), metal iyonları(5), triptofan
(6), çeşitli ilaçlar(7,8) ve vitaminlere(9) bağlanarak onların doku-
lara taşınmasını sağlar. Albuminin üçüncü fonksiyonunda yapısında faz-
la amino asit bulunmasından, gereğinde kullanılabilen bir amino asit
deposu olarak vazife görmesidir (9,10). Son yapılan çalışmalarda ise
serum albuminin aynen bir enzim gibi hareket ettiği, kanda kataliza-
tör vazifesi gördüğü öne sürülmektedir(11,12).

X ve gamma gibi iyonlaştırıcı ışınlar ve radyoizotopların hasta-
lıkların teşhis ve tedavisinde ve endüstride bir çok uygulama alan-
ları günümüzde her gün biraz daha artmaktadır. Bunların faydalı uy-
gulama alanları yanında canlı organizmalarda meydana getirdikleri
zararlı biyolojik etkileri de inkâr edilemez. Gamma ışınları kanser
hücrelerinin öldürülerek tedavisinde kullanıldığı gibi, çeşitli doz-
larda ve sürekli uygulandığında normal doku hücrelerinde kanserleş-
meye neden olmaktadır.

İyonlaştırıcı ışınların kan proteinlerine etkisini araştıran çeşitli çalışmalar vardır(13-19). Serum proteinleri arasında albumin ve gamma-globulinin, alfa ve beta-globulinlerden daha çabuk etkilendikleri görülmüştür(18). 33 Kanserli kadın hastalar üzerinde yapılan bir araştırmada, radyoterapi sırasında verilen dozla orantılı olarak hastaların kanında albumin/globulin oranında düşme, alfa₁, alfa₂ ve gamma-globulin fraksiyonlarında artma saptanmıştır(14). Daha yakın bir zamanda yapılan ilgi çekici bir araştırmada, sürekli olarak radyasyona maruz kalan işlerde çalışan 181 şahsın yüzde 58'inin kanında hipoalbuminemia'ya rastlanmıştır(19).

İyonlaştırıcı ışınların proteinlere etkisi, radyasyon biyolojisi, gıda ve genetik konularında çok önemli olmasına ve sürekli araştırmalar yapılmasına karşın, bu ışınların proteinlere etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Özellikle gıda ışınlamalarında radyasyondan sonra proteinlerde ilk farkedilen renk, doku örgüsü ve koku değişimleridir(20). Barron et al. ışınlamadan sonra protein molekülündeki primer değişikliklerin, protein molekülünde bulunan -SH grubunun oksidasyonundan ileri geldiğini öne sürmektedir(21). Romani ve Tappel ise -SH grubu içeren enzimleri in vitro'da ışınlayarak yaptıkları deneylerde, enzim aktivitelerinin değişimi ile -SH grubunun oksidasyonu arasında bir bağlantı olmadığını(22), ve yumurta albumininde havasız ortamda ışınlanması ile molekülde parçalanmalar olduğunu göstermişlerdir(23). Bir çok araştırıcı ışınlamadan sonra sadece -SH grubunun değil, triptofan(24), imidazol ve histidin(25,26) ve metionin(27) gruplarının da radyasyondan etkilendiğini bulmuşlardır. Ancak bu grupların radyasyondan etkilenmelerinin bir proteinden diğerine farklı olduğu saptanmıştır.

Sunulan çalışmada sıçan serum albuminine iyonlaştırıcı ışınların in vivo ve in vitro'daki etkisi araştırıldı. İn vivo deneylerde X-ışınlamasına tutulan sıçanların kan serumlarının elektroforetik diagramları ve albumin miktarları ışınlamadan hemen, 2.5 saat ve 3 gün sonra

incelendi. İn vitro deneylerde sıçan serum albuminin sulu çözeltisi çeşitli dozlarda ^{60}Co gamma ışınlamasına tutulduktan sonra elektroforetik mobiliteleri ve albumin molekülünde meydana gelen agregasyonlar ölçüldü. Her iki deneyden elde edilen bulgular karşılaştırıldı.

MATERYEL VE METOD

Deneylerde 9-10 haftalık erkek sıçanlar (*Rattus norvegicus*) kullanıldı. Sıçan serum albumini, Koch-Light Firması'ndan, sellüloz asetat kağıtları, Sartorius GmbH Almanya'dan diğer kimyasal maddeler, Fluka AG, Merck ve Koch-Light Firmaları'ndan getirtilti.

Araştırma projesinde deneyler iki grup halinde düzenlendi, (A) grubunda sıçanlar in vivo'da bütün-vücut X-ışınlamasına, (B) grubunda sıçan serum albuminin sulu çözeltisi ^{60}Co kaynağında in vitro'da gamma ışınlamasına tutuldu. Her iki deneyde de iyonlaştırıcı ışınların sıçan serum albuminine etkisi araştırıldı. İn vivo deneylerde 36 sıçan kullanıldı.

Metodlar

Met.1 Sıçanların Röntgen Cihazında Işınlanması:

Sıçanların ışınlanması, içinde bölmeleri ve yan tarafında hava delikleri olan polivinil karbondan yapılmış silindir şeklindeki kaplarda yapıldı. X-ışınlama cihazı 'General Electric Maximar 250 Therapy Unit' olup, 170 kV ve 10 mA'da çalışıldı. Cihazda 1 mm alüminyum ve bakır filtreler olup, absorplanan doz 'Victory Ionizing Chamber' ile ölçüldü. Sıçanlar 10 dakika 22.5 rönt./dak. şiddetinde ve total 225 röntgen X-ışınlamasına tutuldu.

Met.2 Sıçan Serum Albuminin Sulu Çözeltisinin in vitro'da ^{60}Co Kaynağında Gamma Işınlanması:

Destile suda hazırlanan % 0.5 sıçan serum albumin çözeltisinden 2 ml alınarak, ^{60}Co gamma ışınlama kaynağında bulunan beş adet bölmeye uygun olarak yapılan cam kaplara konuldu. Sıçan serum albumin numuneleri 415 rad/dak. şiddetinde ve total 0.2, 0.5, 1.0 ve 1.9 Mrad olan değişik

dozlarda ^{60}Co gamma ışınlamasına tutuldu. Verilen doz FeSO_4 'la yapılan Fricke dozimetresi ile ölçüldü (28).

Met.3 Kandan Serumun Ayrılması (29):

Kan numuneleri oda temperaturünde pıhtılaşınca kadar bekletildi ve bir gece 4°C da muhafaza edildi. Sonra düşük devirde santrifüjlendi, şeffaf sarı renkte ayrılan serum fraksiyonu bir pipetle çekiltili fazından ayrıldı.

Met.4 Sellüloz Asetat Kağıt Elektroförez:

Serum ve albumin çözeltilerinin kağıt elektroförez Dr.Lange Kurtzeit Electrophorese cihazında, 220 volt'ta pH'sı 8.55 olan veronal tampon çözeltisi içinde ve soğuk odada ($5-7^\circ\text{C}$) yapıldı. Sellüloz asetat kağıtları kullanılmadan evvel veronal tampon çözeltisi içinde 20 dakika bekletildi. Tampon çözeltisinden çıkarılan kağıtların üzerindeki ıslaklıklar iki süzgeç kağıdı arasında giderildi. Serum numunesinden 0.1 ml alınarak cihazın özel yazma kalemine dolduruldu. Kalemle 2×16 cm ebadındaki sellüloz asetat kağıdının üzerinde 2 cm uzunluğunda bir hat çizildi. Sellüloz asetat kağıdının numune tatbik edilen tarafı eksi kutba gelecek şekilde cihaza yerleştirilerek elektroförez yapıldı.

Met.5 Serum Fraksiyonunda Albumin Yüzdesinin Saptanması:

Serum numuneleri (0.1 ml) yukarıda anlatıldığı şekilde elektroförez tabi tutuldu. Kağıtlar 75 dakika sonra cihazdan çıkarılarak ponko S 'le (30) hazırlanan boya çözeltisi içinde beş dakika bekletildi. Boyadan çıkarılan kağıtlar iki süzgeç kağıdı arasında kurulandı ve sonra içinde % 5 asetik asit olan kaplardan geçirilerek, kağıtta protein olan bölgelerin dışında kalan kırmızı boya maddesi asetik asitle uzaklaştırıldı. Kağıt üzerinde ilki albumin , ikincisi globulin olmak üzere iki leke belirdi. Albumin ve globulin lekeleri makasla kesilerek çıkarıldı. Elüsyon çözeltisinden (NaHCO_3 'le doymuş metanol) 3'er ml alınarak iki ufak deney tübüne konuldu ve kesilen albumin ve globulin bantları bu çözeltilere daldırıldı. Bir saat bekletilerek kırmızı-

zı renge boyalı olan albumin ve globulinin çözelti fazına geçmesi sağlandı. Daha sonra bu çözeltilerin optik densiteleri 'Perkin Elmer Model 550' spektrofotometresinde 540 nm dalga boyunda ölçüldü. Ölçülen optik densitelerden (OD), albuminin serumdaki % si şu formüle göre saptandı;

$$\text{Albumin \%} = \frac{\text{Alb. OD}}{\text{Alb. OD} + \text{Glob. OD}} \times 100$$

Met.6 Isınlanmış Sıçanların Serumlarında pre-Albumin/Albumin Oranın

Tayini:

Pre-Albumin / Albumin oranının tayini için serum numuneleri Metod 6 da verildiği şekilde elektroforeze tabi tutuldu, ancak pre-albuminin albuminden ayrılmasını sağlamak için elektroforez süresi 75 dakika-
dan 120 dakikaya çıkarıldı. Elektroforezden sonra kağıtlar ponko S le boyanıp, içinde elektroforez cihazının 74050 No'lu transparent solusyonu olan küvete daldırılarak şeffaflaştırıldı. Şeffaflaşan sel-
lülöz asetat kağıdı cam plaka üzerine yapıştırılarak elektroforez cihazının otomatik kaydedicisine yerleştirildi. Ekstinksiyon grafiği (elektroforetek diagramı) alındı. Bu grafiğin total alanı ve herbir absorpsiyonun alanı otomatik olarak okunarak, pre-Alb./Alb. oranı bulundu

Met.7 Sıçan Serum Albuminin Elektroforetik Mobilitesinin Tayini:

Serum numunelerinden veya albumin solusyonundan 0.1 ml alınarak 75 dakika Met.4 deki gibi elektroforeze tabi tutuldu. Kağıtlar ponko S le boyandı ve asetik asit çözeltilerinden geçirildi. Serum albuminin kağıt üzerinde ilerlediği alan cm^2 olarak ölçüldü. Bu alan elektroforez süresine ($75 \times 60 = 4500$ sn) bölünerek, cm^2/sn olarak elektroforetik mobilite tayin edildi.

Met.8 In vitro 'da Gamma Işınlamasına Tutulan Albuminin UV Absorpsiyon Spektrumunun Alınması:

Koch-Light Firma'sından getirtilen sıçan serum albuminin destile su-
da hazırlanan % 0.5 çözeltisi ,değişik dozlarda (0.2, 0.5, 1.0 ve 1.9

Mrad) ^{60}Co gamma ışınlamasına tutulduktan sonra, on defa seyreltilerek absorpsiyon spektrumu 'Perkin Elmer Model 550' spektrofotometresinde kaydedildi.

Met.9 In vitro'da ^{60}Co Gamma Işınlamasına Tutulan Albuminin Agregasyonunun İncelenmesi:

Koch-Light Firmasından getirtilen sıçan serum albuminin destile suda hazırlanan % 0.5 çözeltisi, ^{60}Co kaynağında değişik dozlarda (0.2, 0.5, 1.0 ve 19 Mrad) ışınlamaya tabi tuttukten sonra serum albumin solusyonunda, ışınlamayla kendiliginden çöken, trikloroasetik asitle çöktürülebilen ve çözünmüş halde kalan kısımların % miktarları hesaplandı. Bunun için ışınlamadan sonra albumin çözeltisi 3000xg de santrifüjlendikten sonra süzgeç kağıdından süzöldü. Süzöntü trikloroasetik asitle çöktüröldü ve bu çökeltide protein miktarı amidoscwartz B (31) metodu ile tayin edildi.

BULGULAR

I,(A) In vivo Işınlamalardan Elde Edilen Bulgular:

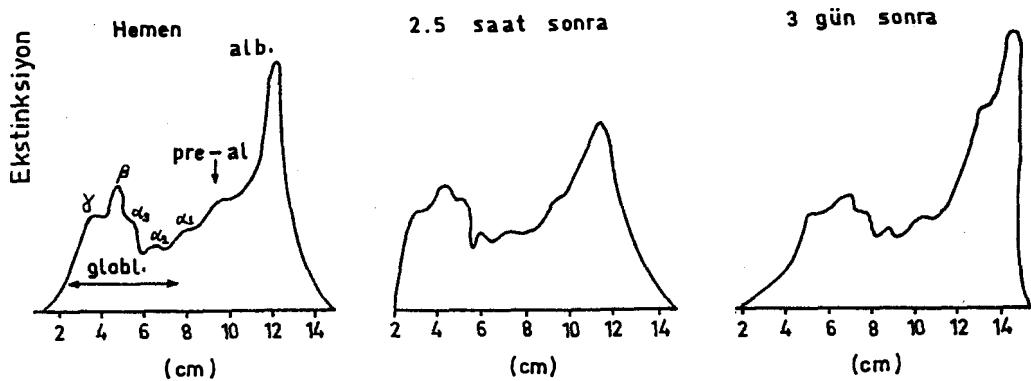
Sıçanlar Met.1'de verildiğı şekilde ışınladı. Işınlamadan hemen, 2.5 saat ve 3 gün sonra öldürölerek kanları alındı ve serum fraksiyonu Met.3'de anlatıldığı şekilde ayrıldı. Bu fraksiyonlarda bulunan albumin % si (Met.4-5) tayin edildi. Bu fraksiyonlarda aynı zamanda pre-albumin / albumin oranı (Met.6) ve albuminin elektroforetik mobilitesi (Met.7) saptandı. Elde edilen bulgular Tablo I'de, ışınlamadan hemen, 2.5 saat ve üç gün sonra ayrılan serumların elektroforetik diagram örnekleri Sekil I'de görölmektedir.

Tablo I

İn vivo'da 22.5 rönt./dak. şiddetinde ve total 225 röntgen bütün-vücut X-ışınlamasına tutulan erkek sıçanların serumlarında ışınlamadan sonra meydana gelen değişimler.

		Işınlamadan sonra geçen süre		
		Hemen	2.5 saat	3 gün
(a) Alb.%	Den.	54.91	40.42	55.13
	Kon.	56.02	55.97	56.08
(b) Alb. elektroforetik Mobilite	Den.	$(179 \pm 0.73) \times 10^{-5}$	$(179 \pm 0.90) \times 10^{-5}$	$(180 \pm 0.50) \times 10^{-5}$
	Kon.	$(181 \pm 0.86) \times 10^{-5}$	$(180 \pm 0.12) \times 10^{-5}$	$(180 \pm 0.76) \times 10^{-5}$
(c) pre-Al /Al. oranı	Den.	0.062	0.069	0.647
	Kon.	0.045	0.044	0.473

Tablo I de (a) daki bulgular 20 deneyin ortalamasını, (b) deki bulgular $\text{mean} \pm \text{SD}$ nu, (c) deki bulgular ise 12 deneyin ortalamasını ifade etmektedir.



Şekil I. İn vivo 22.5 rönt/dak şiddetinde total 225 röntgen bütün-vücut X-ışınlamasına tutulan erkek sıçanların serumlarının ışınlamadan hemen, 2.5 saat ve 3 gün sonra alınan elektroforetik diagramları.

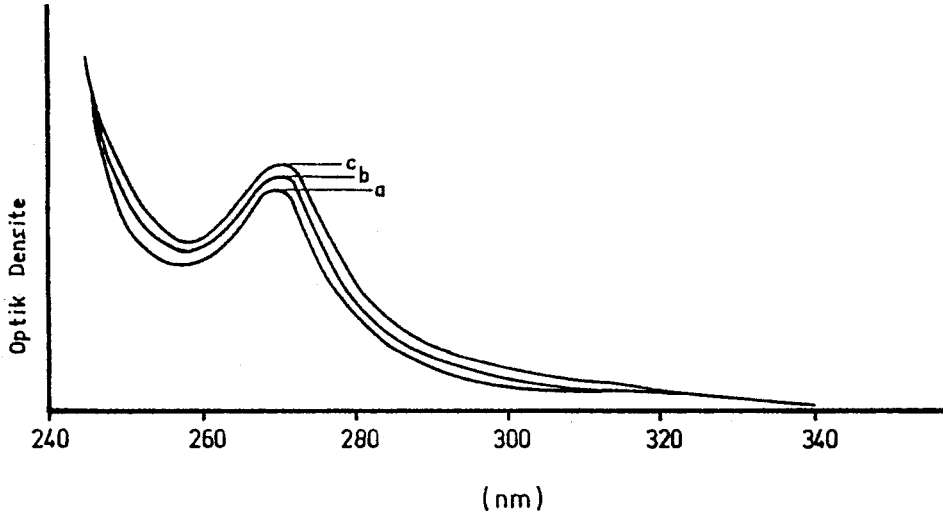
I-(B) Serum albuminin in vitro ^{60}Co kaynağında gamma ışınla-
sından sonra elde edilen bulgular

Koch-light Firmasından getirtilen sıçan serum albuminin desti-
le suda hazırlanan % 0.5 konsantrasyondaki çözeltisi 415 rad/
dak şiddetinde ve total 0.2,0.5,1.0 ve 1.9 Mrad dozlarda ^{60}Co
gamma ışınlamasına tutuldu (Met.2).Işınlamadan sonra serum al-
buminin elektroforetik mobilitesi(Met.7),ultraviole absorpsi-
yon spektrumu(Met.8) tayin edildi.Tablı II de elektroforetik
mobiliteler,Şekil II de ise UV absorpsiyon spektrumları veril-
miştir.

Tablo II

İn vitro'da 415 rad/dak. şiddetinde ve 0.2 ,0.5, 1.0 ve 1.9 M rad
dozlarda ^{60}Co gamma ışınlamasına tutulan sıçan serum albuminin
elektroforetik mobiliteleri.

Elektroforetik Mobilite cm^2/sn			
0.2 Mrad	0.5 Mrad	1.0 Mrad	1.9 Mrad
Den. $(174 \pm 1.48) \times 10^{-5}$	$(123 \pm 1.86) \times 10^{-5}$	$(102 \pm 1.43) \times 10^{-5}$	$(28 \pm 1.76) \times 10^{-5}$
Kon. $(180 \pm 1.11) \times 10^{-5}$	$(178 \pm 1.41) \times 10^{-5}$	$(179 \pm 0.87) \times 10^{-5}$	$(178 \pm 1.65) \times 10^{-5}$
Mean $\pm$ SD			



Şekil II. Sıçan serum albuminin ultraviole absorpsiyon spektrumu.
(A)-Işınlanmadan evvel,(B)- 0.2 Mrad, (C)- 1.9 Mrad ışın-
lamadan sonraki absorpsiyon spektrumları.

I-(B), in vitro'da 415 rad/dak. şiddetinde ve 0.2 ,0.5, 1.0 ve 1.9 Mrad dozlarda ⁶⁰Co gamma ışınlamasına tutulan % 0.5 sıçan serum albumin çözeltisinde ışınlamadan sonra meydana gelen (a)-kendiliğinden çökelme % si, (b)-trikloroasetik asitle çöktürülen albumin % si ve (c)-albuminin parçalanma ürünlerinin % si Met.9'da verildiği şekilde tayin edildi. Elde edilen bulgular Tablo III'de görülmektedir.

Tablo III

in vitro'da 415 rad/dak. şiddetinde ve değişik dozlarda ⁶⁰Co gamma ışınlamasına tutulan % 0.5 sıçan serum albumin çözeltisinde ışınlamadan sonra meydana gelen agregasyon.

	Total Doz Mrad			
	0.2	0.5	1.0	1.9
(a)-Fraksiyonu %si	1.10	1.23	2.33	9.07
(b)-Fraksiyonu %si	98.60	98.10	96.95	89.42
(c)-Fraksiyonu %si	0.30	0.67	0.72	1.51

(a)Işınlamadan sonra kendiliğinden ayrılan albumin çökeltisi,

(b)Işınlamadan sonra TCA ile çöktürülen albumin çökeltisi,

(c)Albuminden ışınlamayla meydana gelen parçalanma ürünleri.

Tablodaki değerler 20 deneyin ortalaması alınarak bulundu.

MÜNAKAŞA

Serum albuminin sentezinin büyük bir kısmı karaciğer parankimal hücreleri tarafından yapılır ,ancak oartik,linfatik ve proksimal tubular epiteliumların da albumin sentezini yapabildiği iddia edil-

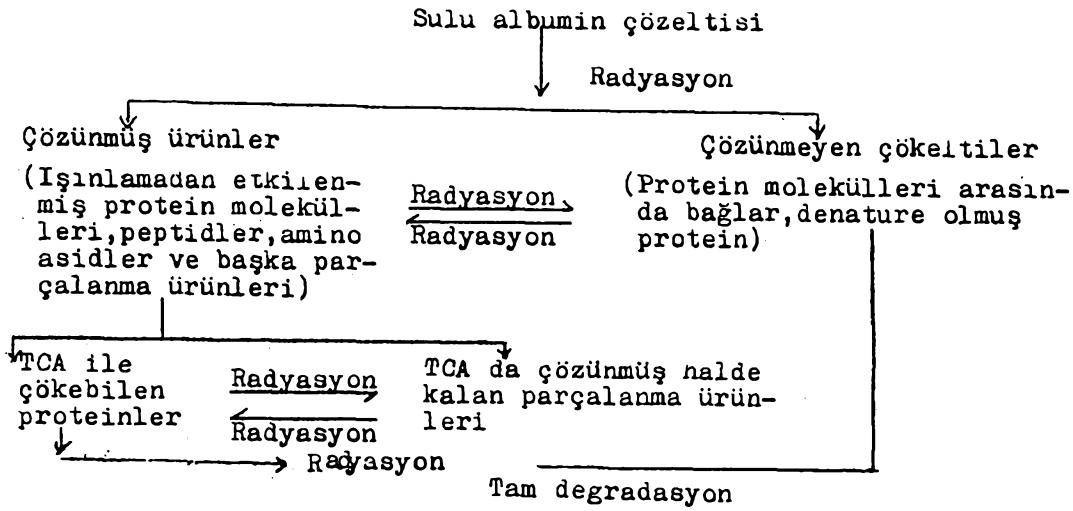
mektedir(32,33).Yapılan arařtırmalar ,beslenme alışkanlıkları(34), besinlerle alınan lizin ve treonin(35),açlık ve kronik alkol alımı (36),büyüme hormonları insülin,testesteron ,kortikosteroid (37) ve çeşitli hastalıkların (33) albumin sentezini etkilediğini göstermiştir.Albumin molekülünün katabolizmi en fazla,metabolik hızı yüksek olan dokularda,hücre seviyesinde ise lizozomlarda olmaktadır (38,33).

Sıçanlar üzerinde ^{35}S -sistein le yapılan deneylerde,bütün-vücut X-ışınlamasının serum albumin sentezini yavaşlattığı bulunmuştur(17). Sıçanlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada da karaciğer bölgesi 80 rad X-ışınlamasına tutulduktan sonra kan albumin seviyesinde azalma olduğu görülmüştür(39).Lözin- ^3H li ortamda üç saat perfüzyon yapıldıktan sonra in vitro da çeşitli dozlarda X-ışınlamasına tutulan izole edilmiş sıçan karaciğerinde,500 rad dozdan sonra plazma albumin seviyesinde artma olduğu saptanmıştır(40). 600 rad X-ışınlamasına tutulan sıçanlara,ışınlamadan hemen,24 ve 72 saat sonra ^{131}I la damgalı albumin injekte edildiğinde,kandaki radyoaktif albuminin degradasyonunun ışınlanmış hayvanlarda kontrollara kıyasla daha fazla olduğu ve degradasyon derecesinin ışınlamadan sonra geçen zamana bağlı olmadığını bulmuşlardır(41).

Tablo I deki bulgular incelendiğinde,X-ışınlamasına tutulan sıçanların serumlarında bulunan albuminin elektroforetik mobilitesinin değişmediği,serumdaki albumin konsantrasyonunda ise ışınlamadan 2.5 saat sonra kontrole kıyasla büyük bir düşme olduğu görülmektedir. Işınlamadan sonra sıçan serumunda albumin konsantrasyonunun azalması çeşitli nedenlerden ileri gelebilir.Bu nedenler üç grup altında toplanabilir; (1)- X-ışınlarının albumin sentezine (17,39), (2) - albumin molekülünün katabolizmine (40,41) veya (3)-albumin sentezini veya katabolizmini değiştirebilen faktörlere etkisi.Tablo I , Şekil I de X-ışınlamasına tutulan sıçanların serumlarının ışınlamadan sonraki elektroforetik diagramları görülmektedir.Pre-albumin/ albumin oranında ışınlamadan sonra zamanla orantılı olarak artma ol-

maktadır.Bilindiği gibi pre-albuminin molekül tartısı albumininkine çok yakın olup(alb.69.000,pre-alb.61.000),yapısında albuminden farklı olarak karbonhidrat bulunmaktadır(1).Kontrol gruplarında pre-albumin miktarlarına bakıldığında,albumine kıyasla çok düşük olduğu dikkati çekmektedir. Sıçan kanlarının elektroforetik diagramlarında pre-albumini albuminden ayırabilmek için elektroforez süresini 75 dakikadan 120 dakikaya çıkarılması gerektiğini yaptığımız deneylerde (Met.6) gördük.Işınlamadan sonra pre-albumin/albumin oranında meydana gelen artma,ışınlamadan sonra pre-albumin molekülünün taşıdığı net yükte meydana gelen değişim ve buna bağlı olarak elektroforetik mobilitelerinin(EM)değişimi,ışınlamadan evvel birbirine çok yakın EM ye sahip olan ve elektroforez kağıdında birbiri üzerine gelen pre-albumin ve albumin bantlarının ışınlamadan sonra birbirlerinden ayrılmalarından ileri gelmiş olabilir.

İn vitro da değişik dozlarda gamma ışınlamasına tutulan sıçan serum albuminin sulu çözeltisinin elektroforetik mobilitelerinin verilen dozla orantılı olarak yavaşladığı görülmektedir (Tablo II). Albuminin ışınlamayla elektroforetik mobilitelerinin yavaşlaması,ışınlamayla molekülde bulunan net negatif yükte azalma olduğunu göstermektedir.Serum albuminin UV absorpsiyon spektrumunda ışınlamadan sonra bir değişiklik olmamakta,sadece 280 nm civarında, absorpsiyon yoğunluğunda doza bağlı bir artış olmaktadır(Şekil 2).Bu artışın artan dozla çözeltide meydana gelen çökeltiden ileri geldiği sanılmaktadır.Albumin molekülünün absorpsiyon spektrumu diğer basit proteinlerinki gibidir,sadece triptofan az olduğundan 280 nm civarındaki absorpsiyon daha azdır.Tablo III de in vitro da değişik dozlarda gamma ışınlamasına tutulan serum albuminin sulu çözeltisinde verilen doza paralel olarak,çözeltide kendiliğinden çöken albumin konsantrasyonu ve çözeltide bulunan albuminin parçalanma ürünlerinin miktarında artma olduğu kaydedilmektedir.Tablo III deki bulgulardan,sulu albumin çözeltisinde ışınlamadan sonra meydana gelen reaksiyonlar şu şekilde özetlenebilir;



Albumin çözeltisinde in vitro da ışınlamadan sonra meydana gelen agregasyonun ,iki albumin zinciri arasında karşılıklı bağların teşekkülü ile mi,yoksa denaturasyonla mı veya başka bir mekanizma ile mi teşekkül ettiğini belirlemek oldukça güçtür.Agregasyonda ,ışınlama ile meydana gelen parçalanma ürünlerinin de etkisi olabilir.Tablo IV de araştırmada elde edilen bulgular özet olarak verilmiştir.Bu sonuçlara bakıldığında iyonlaştırıcı ışınların serum albuminine etkisinin in vivo ve in vitro da farklı olduğu görülmektedir.Bu farkın in vitro da albuminin sadece suyun radyolizi ile teşekkül eden radikallerden etkilenmesi,in vivo da ise organizmada radyasyonla meydana gelen çok değişik reaksiyon ürünlerinin albumin molekülünü etkileme olasılığından ileri geldiği tahmin edilmektedir.

Günümüzde iyonlaştırıcı ışınlarla çalışan personel sayısında büyük bir artış olmaktadır.Örneğin Kanada da yapılan bir istatistikte 1951 yılından bu yana 'Atomik Radyasyon İşçisi ' olarak kayıtlı 250 bin kişi bulunmaktadır(42).Meslekleri gereği sürekli olarak iyonlaştırıcı işlerde çalışan 86 personel üzerinde yapılan bir araştırmada,orta yaşın üzerindeki 65 kadının serum proteinlerinde değişme,özellikle alfa₂-makro globulin seviyesinde artma kaydedilmiştir (43).Sunulan çalışmanın,çok önemli biyolojik görevleri olan albumine(1-12) radyasyonun etkisinin araştırılması,radyasyondan korunma alanında katkısı olacağı sanılmaktadır.

Tablo IV
Bulguların Özeti

İyonlaştırıcı Işınlardan Serum Albuminine Etkisi.

<u>İn vivo da</u>	<u>İn vitro da</u>
1-Işınlamadan 2.5 saat sonra serum albumin seviyesinde azalma.	1-EFM dozla orantılı olarak azalıyor.
2-EFM değişmiyor.	2-UV absorpsiyon spektrumu ışınlamadan sonra değişmiyor.
3-Pre-albumin/Albumin oranında artma.	3-Işınlamadan sonra albuminde agregasyon ve degradasyon meydana geliyor.

KAYNAKLAR

- 1- WHITE, A., HANDLER, P. and SMITH, E. L. edd. "Blood", in Principles of Biochemistry, Mc Graw-Hill Book Company, p.808(1973).
- 2- PEDERSEN, A. O., SCHONHEYDER, F. and BRODERSEN, R., Photooxidation of Human Serum Albumin and Its Complex with Bilirubin, Eur. J. Biochem. 72, 213-221(1977).
- 3- LEE, K. S., GARTNER, M. L. and VAISMAN, S. L. Measurement of Bilirubin Albumin Binding I. Padiat. Res. 12, 301-307(1978).
- 4- SHABAG, V. P. and JOHANSSON, G. Interaction of Human Serum Albumin with Fatty Acids. Eur. J. Biochem. 93, 363-367(1979).
- 5- ANDERSEN, N. F. Albumin/Calcium Association at Different pH, as Determined by Potentiometry. Clin. Chem. 23, 2122-2126(1977).
- 6- JACOPSEN, C. and JACOPSEN, J. Dansylation of Human Serum Albumin in The Study of The Primary Binding Sites of Bilurubin and L-Triptophan. Biochem. J. 181, 251(1979).

- 7-NILSEN,O.G.Serum Albumin and Lipoproteins as The Quinidine Binding Molecules in Normal Human Sera.Biochem.Pharmacology,25,1007-1012(1976).
- 8-KOH,S.W. and MEANS,G.E.Characterization of a Small Apolar Anion anion Binding Site of Human Serum Albumin.Arch.Biochem.Biophys.192,73-79(1979).
- 9-MOLLOY,T.P. and WILSON,C.N.M.Protein of Binding Ascorbic Acid.I.Binding BSA.Int.J.Vit.Nutr.Res.50,380-386(1980).
- 10-LEDFORD,B.E.,WARNER,R.W. and COCHRAN,R.A.Albumin Synthesis in Cultured Hepatoma Cells Regulation by Essential Amino Acids.Biochem. Biophys.Acta,475,90-95(1977).
- 11-TAYLOR,R.P.In Enzyme-like Activities Associated with Albumin (Proceedings of Lehay Conference of Albumin)(Rosenoer,V.,edd.), Pergamon Press,p.350(1977).
- 12-STURGILL,G.S.,BASKIN,T.W. and TAYLOR,P.R.Bovin Serum Albumin as Catalist.Biochem.Biophys.Acta,485,236-241(1977).
- 13-KOCH,R. and STAEHLER,F.Investigation of a Biological Radiation Protection.Part II.The Effects of Chemical Radiation-Protection Material for in vitro Irradiation of Cattle Serum Albumin Solution.Strahlentherapie,121,129-140(1963).
- 14-KONYA,Z.,CSOEMOER,S. and SZEKER,J.The Changes in Serum Protein Fraction in Female Carcinoma Patients During Radiation Treatment. Strahlentherapie,125,599-603(1964).
- 15-SIKOV,M.R.,CHAPMAN,B.B.,HISSONG,D.E. and PRINGLE,B.H.Protein Electrophoretic Changes Following Total-body Irradiation of Normal and Tumor-bearing Rats.Atompraxis,12,297-300(1966).
- 16-LUZZIO,A.J.,FRIEDMAN,B.I.,KERFIAKES,J.G. and SAENGER,E.I.Specific Proteins in Serum of Total-body X-irradiated Humans.J.Immun.96, 64-67(1966).
- 17-CIER,A.,GEFFLEN,G. and CIER,J.F.Total Body Exposure and Serum Albumin Metabolism.Comp.Rend.Soc.Biol.164,1723-1725(1970).
- 18-AZANZA,J.L.,DUCASTAING,A.,RAYMOND,J. and CREACH,P.Comparative Study of Modifications Produced by X-rays in Bovine Serum Proteins. Compt.Rend.Soc.Biol.166,1257-1264(1972).
- 19-KOZLOVSKII,V.N. and DENISOVA,E.A.Lipid and Protein Metabolism in Chronic Occupational Radiation Exposure.Med.Radiol.17,6(1972).

- 20-DRAKE,M.P. and GIFFE,J.W.Action of Ionizing Radiations on amino acids,Proteins and Nucleoproteins,Radiation Preservation of Food, 133-158,U.S.Army Quartermaster Corps(1958).
- 21-BARRON,J.,GUZMAN,E.S.,AMBROSE,J. and JOHNSON,P.Studies on The Mechanism of Action of Ionizing Radiations.Radiation Research, 2,145-158(1955).
- 22-ROMANI,R.J. and TAPPEL,A.L.Anaerobic Irradiation of Alcohol Dehydrogenase ,Aldolase and Ribonuclease.Arch.Biochem.Biophys. 79,323-329(1959).
- 23-ROMANI,R. and TAPPEL,A.L.Irradiation of Egg Albumin Solutions Under Anaerobic Conditions.Radiat.Research,12,526-531(1960).
- 24-PROCTOR,B.E. and BHATIA,D.S.Effects of High Voltage Cathode Rays on Aqueous Solutions of Tryptophan,Throsine,Phenylalanine and cystine.Biochem.J.51,535-538(1952).
- 25-PROCTOR,B.E. and BHATIA,D.S.Mode of Action of High Voltage Cathode Rays on Aqueous Solutions of Amino Acids.Biochem.J.53, 1-3(1953).
- 26-BHATIA,D.S. and PROCTOR,B.E.Effect of High Voltage Cathode Rays on Aqueous Solutions of Histidine Monohydrochloride.Biochem.J. 49,550-553(1951).
- 27-DURAN,L. and TAPPEL,A.L.Production of Carbonyl Compounds and Sulfur Compounds on Irradiation of Amino Acids.Radiat.Research, 9,498-450(1958).
- 28-FRICKE,H. and MORSE,S.Fricke Dosimeter,Am.J.Roentgenol.Rad.Therapy ,18,430-437(1927).
- 29-SCHADE,R. and BÜRGER,W.Identification and Characterization of Some Proteins of The Laboratory Rat(Rattus norvegicus) by Crossed immunoelectrophoresis.Acta biol.med.germ.38,653-661(1979).
- 30-HUMASON,L.G.edd.'Animal Tissue Technique',Mc Graw Hill,p.186(1972).
- 31-ANDERSEN,K.J.,IVERSEN,M.B.SKAGEN,W.D. and ELSAYED,S. An Approach for The Quantitation of Serum Albumin Utilizing The Principle of Protein-dye Binding.Analytical Biochemistry,89,418(1978).
- 32-CAMPBELL,P.N.The Biosynthesis of Albumin.FEBS Letters,54,119(1975).
- 33-PETERS,T.In Plazma Proteins(Putnam F.,edd.) Vol I.pp.163-166, Academic Press,New York (1975).

- 34-ODEWOYE, H.O. and FABIE, J.F. Serum Albumin Level in An Urban Nigerian Population. *Br. J. Nutr.* 40, 439 (1978).
- 35-PRESTON, M.L., MORGAN, P.H., FLODIN, N.W. and EPPS, J.M. Prediction of Serum Albumin Levels in Rats by The Four-Parameter Model-Equation for Nutritional Responses, *Nutr. Rept. Intl.* 19, 583-589 (1979).
- 36-BIANCHI, R., MARIANE, G. and Mc FARLANE, A.S. edd. In *Plazma Protein Turnover*, University Park Press, pl10 (1976).
- 37-LEVIN, L. and LEATHAM, H. The Effect of Growth Hormones on The Synthesis of Serum Albumin, *Amer. J. Physiol.* 136, 306 (1942).
- 38-JOHN, L.M. and FARB, R.M. An Energy Requirement for The Degradation of Intravenously Injected ^{125}I -Labelled Albumin in Mouse Liver and Kidney Slices. *Biochem. J.* 178, 233-238 (1978).
- 39-PAOLINI, F.A. and PANELLA, A. Changes in Serum Proteins of Rats Subjected to Small Doses of X-rays. I. Total Proteins. *Minerva Fisioterap.* 6, 190-193 (1961).
- 40-KLAUS, K. and FRITZ, S. Metabolic Changes in The Proteins of The Isolated Perfused Rat Liver in Dependence on The Metabolic State and The Effect of an in Vitro Irradiation. *Stud. Biophys.* 18, 165-171 (1969).
- 41-RZENDOWSKA, F., GAYEWKI, A.K., SLOVIKHOWSKA, M.G. BUDZYNSKI, A.Z. and TADEUSZ, M. Metabolism of Homologous Albumin-Iodine- ^{131}I in X-ray Irradiated Rats, *Acta Physiol. Pol.* 21, 525-542 (1970).
- 42-MYERS, D.K., NEWKOMBE, H.B. and MARKO, A.M. Long-term Follow-up of Radiation Workers in Canada, K.F. Hübner and S.A. Fry, edd. *The Medical Basis for Radiation Accident Preparedness*, Elsevier North Holland, Inc. pp. 431-440 (1980).
- 43-WAGNER, V. WAGNEROVA, M. SKOKANOVA, K. and SLESINGEROVA, B. The Values of Alfa 2-Macroglobulin in The Serum of Person at Work with X-rays. *Rad. and Environm. Biophys.* 14, 295-302 (1977).