

## 5'- NÜKLEOTİD AZ ENZİMİ VE KLİNİK ÖNEMİ

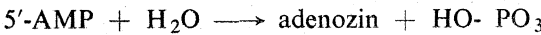
Veliye GÜRSEL (x)  
Necati KAYA (xx)

### ÖZET:

5'-nükleotidaz, karaciğer hastalıklarının teşhisinde, hepatoselüler sarılıktan tıkanma sarılığını ayırd etmede, vücudun herhangi bir yerini tutmuş kanserin karaciğere metastaz yapıp yapmadığını belirlemede ve artmış alkalin fosfatın başka nedenlere dayanıp dayanmadığının anlaşılmasında faydalı bir enzimdir. Her dokuda bulunan bu enzim mononükleotitlerden fosfatı hidroliz eder. Aktivitesi sağlam yetişkinlere oranla sağlam çocuklarda daha düşüktür.

### GİRİŞ:

5'-nükleotidaz (5'-Nase, 5'-NT, 5'-N,5' -ribonükleotit fosfohidrolaz. EC3.1.3.5) bir fosfatazdır. Mononükleotitlerin pentoz grubuna 5-pozisyonunda bağlı fosfatın hidrolizini kataliz eder. Başka bir deyişle hidrolaz veya bir serum esterazıdır (1-8). İnozin monofosfat (IMP) ve günozin monofosfat (GMP)'ı da substrat olarak kullanabilmesine rağmen, temel substrat adenozin monofosfat (AMP)'tır. Hidroliz reaksiyonu basitçe şöyle ifade edilebilir (3,4,5,9,10,11):



Mangan ve magnezyum iyonları bu enzimi aktive ederlerken, nükleozit trifosfatlar (örneğin, ATP) inhibe ederler (6,9,12,13). İnhibisyon adenzindifosfat (ADP) ile daha da kuvvetlidir (3,10,14). Aktivasyon ve inhibisyonla dengelenen hidroliz olayını dengeleyen 5'-NT, mononükleotid havuzunu boşaltarak nükleik asitlerin gereksiz yere sentezini önler (3).

### LOKALİZASYON:

5'-NT enzimi insan dokularının hemen hemen hepsinde mevcuttur. Bu enzimin beyinde bulunuşu, kan-beyin bariyerinde bir fonksiyona sahip olduğunu dü-

(x) A.Ü. Diş Hek. Fak. Araştırma Görevlisi Biyokimya Bölümü

(xx) A.Ü. Veteriner Fak. Araştırma Görevlisi, Biyokimya Bölümü.

şürdüremektedir. Zaten deneysel araştırmalar da beyindeki dentritik sinir uçlarında ve snapsislerde yüksek konsantrasyonda bulunduğunu göstermiştir (3).

Karaciğer plazma membranlarından F-(hızlı) ve S-(yavaş) 5'-NT fraksiyonları izole edilmiştir. Bunlardan F-subfraksiyonu endotel izoenzimi olarak bilinir. S-subfraksiyonu ise safra kanalikül izoenzimidir. Değişik pH'larda optimal olan 5'-nükleotidazlar saflaştırılmıştır (3,9).

Histokimyasal çalışmalar, küçük damarların içinde ve çevresinde 5'-NT aktivitesinin yüksek olduğunu gösterir. Koroner damarlarda ise kan akışının regülasyonunu sağlar. Mekanizması şöyle ifade edilmektedir. Oksidatif fosforilasyonla ATP oluşması 5'-NT'ı inhibe eder. Oksijen ya da substratın tükenmesiyle ATP konsantrasyonu düşer. 5'-NT, 5'-adenozin monofosfatı hidroliz eder. Adenozin açığa çıkar ve vazodilatasyon sağlar. Böylece oksijen ve besin stoğunu düzeltir. Bu da adenozinin (5'-NT'a anahtar görevi yaptığı anlamını taşır (3,15).

Rat organlarında ve doku tümörlerinde kapsamlı çalışmalar yapılmış ve 5'-NT aktivitesi yüksek olan dokularda ribonük leukasit (RNA) üretiminin az olduğu; timidin bazının ise deoksi-ribonükleikasit (DNA) yapısına çok az girebildiği ortaya konulmuştur. Diğer taraftan, 5'-NT aktivitesi düşük dokularda RNA miktarı ve timidin gruplaşmasının birlikte arttığı gösterilmiştir (3).

## TAYİN METODLARI

Son yıllardaki çalışmalar farklı metodlar önerir. 5'-AMP ya da 5'-IMP'in subsrat olarak kullanıldığı kolorimetrik yöntemler inorganik fosfat (Pi) liberasyonuna dayanır (4,5). Deney işlemleri sonunda oluşan rengin absorbansı ölçülerek 5'-NT aktivitesi hesaplanır. Bu yöntem tam spesifik olmamaktaysa da prosedürü kolaydır. Hidrojen, oksijen veya fosfor ile karbonun radyoaktif izotopları kullanılarak oldukça hassas radyomikrotayinlerin kolayca yapılabileceği yazılıyor (6,7,13,18).

Ayrıca adenozinden amonyak ayrılması esasına dayanan 5'-NT aktivite tayini ise Berthelot reaksiyonu ile yapılabilir (10). Elektroforetik yöntem de hassastır. Elektroforez ile bu enzimin subfraksiyonları izole edilebilir (9).

## KLİNİK ÖNEMİ

Bu enzim, karaciğer hastalıklarının ve karaciğere metastaz yapmış kanserin biyokimyasal belirleyicisi olarak kullanılır (3,17,18,19). Ayırıcı teşhiste alkalenfosfataz (ALP)'den daha spesifiktir (8). Hem karaciğer hastalığı, hem de kemik hastalığı gibi ALP artırıcı durumlarda an-ikterik hastaların ALP değerlerindeki artışın açıklanmasına ve hepatik kanserin erken ortaya çıkarılmasına ışık tutar-(3). Ancak karaciğere metastaz yapmış kanser hastalarında kemoterapi veya radyoterapi uygulandıktan sonra 5'-NT değerleri çoğunlukla düşer. Sirozun başlangıcında yüksektir. Hastalık ilerlerken düştüğü fark edilir. Hepatik komada ise normal değerlere rastlanır. Aslında yüksek değerler erken olgularda görülür (3,12).

5'-NT hepatobilyer hastalıklarda yükselir. Hepatoselüler sarılıktan obstruktif sarılığı, kemik hastalığından hepatobilyer hastalığı ayırmanın ölçüsüdür. Bu özellikleri proteolitik bir enzim olan lösin aminopeptitaz (LAP) gibidir (3,15).

Kemiğe metastaz yapmış bir kanserlide serum ALP arttığı halde 5'-NT'nin normal kaldığı deneylerle ortaya çıkmıştır (16).

Çocuklarda görülen karaciğer hastalıklarının teşhisinde rutin olarak 5'-NT seviyelerinden yararlanır (2,3). Lösemililerin T-lenfositlerinde kısmen, B-hücrelerinde ise son derece azaldığı bildirilir (14). En yüksek değerler posthepatik sarılık, intra-hepatik kolestaz ve karaciğerin infiltratif lezyonlarında gözlenir (8). Paget hastalığında 12.9U/L; göğüs kanserinde 48-389 U/L; sindirim kanalı, pankreas ve karaciğer kanseri olanlarda 27-318 U/L; lenfoma ve lösemide 86-168 U/L; prostat kanserinde 17.7 U/L'ye kadar yükselmiş aktiviteler bulunduğu rapor edilmiştir (3).

### NORMAL DEĞERLER

Sağlam kişi 5'-NT aralığı 3.2-11.6 unite/litredir (10,12). Dört haftalık bebeklerde yapılan bir araştırmadaki ortalama değerler 2.8-10 U/L arasında bulunmuştur (2).

### SONUÇ

Serum 5'-nükleotidazı karaciğer hastalıklarının tedavisinde bir rehber gibidir (3). Hepatobilyer hastalıklarda yüksek, kemik hastalıklarında normal seviyelerde kalması ayırıcı tanıya yardım eder (3,2). Bu bakımdan bu enzimi tanımak, tanıtmak ve bölgelerdeki aktivitesini araştırmak gerekir.

5'-NT aktivite tayini için fosfor, karbon ve hidrojenin radyoaktif izotopları vasıtasıyla oldukça hassas (7,10); inorganik fosfat ya da amonyak ayrılmasına dayanan kolorimetrik (4,5) ve spektrofotometrik (10) yöntemler tarif edilmiştir. 5'-nükleotidaz enziminin etkisiyle adenozin mononükleotitten hidroliz olan inorganik fosfatın kolorimetrik tayini hem her laboratuvarında uygulanabilecek kolaylıkta hem de ekonomiktir.

### THE ENZYME OF 5'-NUCLEOTIDASE AND CLINICAL SIGNIFICANCE

**SUMMARY.** 5'-nucleotidase can prove to diagnose the hepatic disease, classify the obstructive or hepatobiliary jaundice, detect a metastatic cancer to the liver, and where high alkaline phosphatase originates. It hydrolyzes inorganic phosphate from the mononucleotides. There is present all tissues. Enzyme activity is low in healthy infants and high in adult.

## KAYNAKLAR

- 1- BELFIELD, A., GOLDBERG, D.M. (1963): Activation of serum 5'-nucleotidase by magnesium ions and its diagnostic applications; *J. Clin. Path.* 22, 441-51.
- 2- CLAYTON, E.B., ROUND, J.M. (1984): *Chemical Pathology and the Sick Child*, p. 20, 192, Blackwell Scientific Publications, London.
- 3- GOLDBERG, D.M. (1973): 5'-nucleotidase: Recent advances in cell biology, methodology and clinical significance; General review, *Digestion* 8: 87-99.
- 4- WOOD, R.J. and WILLIAMS D.G. (1981): Colorimetric determination of serum 5'-nucleotidase without deproteinization; *Scientific notes; Clin. Chem.* 27 (3): 464-465.
- 5- HEINZ, F., PILZ, R. RECKEL, S. et al. (19.): A new spectrophotometric method for the determination of 5'-nucleotidase; *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 18: 781-88.
- 4- HURWITZ, M.Y., EDSROM, R.D. (1978): A simple, sensitive radiomicroassay for 5'-nucleotidase: *Anal. Biochem.* 84: 246-50.
- 7- BOSS, G.R., THOMPSON, L.F., O'CONNOR, R.D. et al. (1981): Ecto-5'-nucleotidase deficiency: Association with adenosine deaminase deficiency and nonassociation with deoksyadenozine toxicity: *Clin, Immn. and Immunopathology* 19: 1-7.
- 8- HENRY, J.B. (1984): *Clinical diagnosis an management by laboratory methods*, 263-1435 (W.B. Saunders Co. London.
- 9- JENSEN, M.H. (1981): The 5'-nuclotidose complex in sera from patients with gall stones-Electrophretic patterns and substrate specificty; *Clin. Chim. Acta* 110: 287-93.
- 10- BOOTSMA, J., WOLTHERS, B.G. and GREN, A. (1972): Determination of serum 5'-nucleotidase by means of NADH- linked reaction; *Clin. Chim. Acta* 41: 219-22.
- 11- BURGER, R.M. and LOWENSTEIN, J.M. (1975): 5'-nucleotidase from smooth muscle of small intestine and from brain inhibition by nucleotidase; *Biochemistry* 14 (11): 2362-366.
- 12- SCHWARTZ, M.K. and BODANSKY, O. (1965): Serum 5'-nucleotidase in patient with cancer; *Cancer* 18 (7): 886-92.
- 13- GENTRY, M.K., OLSSON, R.A. (1975): A simple, specific, radioisotopic assay for 5'-nucleotidase; *Anal. Biochem.* 64: 624-27.

- 14- DUNN, N.L. and MAURER, (H.M.)(1982): Enzyme alterations in leukemic cells; *Amr. J. Hemath*, 13: 343-51.
- 15- BURGER, R.M. and LOWENSEIN, J.M. (1970): Preparation and properties of 5'-nucleotidase from smooth muscle of small intestine; *The Journal of Biological Chemistry*, 245 (33): 6274-280.
- 16- ROCHLANI, M. and SWANSON R.A. (1985): 5'-nucleotidase (5NT) assay for the cobas-bio. *Clin. Chem.* 31 (6): 1001.
- 17- KAPLAN, L.A., PESCE, A.J. (1984): *Clinical Chemistry; Theory, Analysis and Correlation*; 436, 635, 892. The C.V. Mosby Comp., Toronto.
- 18- RAZ, A. COLLARD, J.G., and INBAR, M. (1978): Decrease in 5'-nucleotidase activity in malignant transformed and normal stimulated cells; *Cancer Research* 38: 1258-262.
- 19- KIM, N.K., YASMINEH, W.G., FREIER, E.F. et al. (1977): Value of alkaline phosphatase, 5'-nucleotidase, gamma-glutamyltransferase, and glutamate dehydrogenase activity measurements (single and combined) in serum in diagnosis of metastasis to the liver; *Clin. Chem.* 23 (11): 2034-2038.