

Kahramanmaraş Yöresinde Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Enzim Polimorfizminin İncelenmesi

Lale DÖNBAK

KSÜ. Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
Kahramanmaraş

Ergül BELGE KURUTAŞ

KSÜ. Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Kahramanmaraş

Özet

Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz enzimi (G-6-PD), vücutta biyokimyasal reaksiyonlarda üstlendiği direk veya indirek görevler açısından oldukça önemlidir. Enzim hala, çok çeşitli yönleriyle farklı çalışmalara araştırma konusu olmaktadır.

Bu çalışmada, Kahramanmaraş yöresinde yaşayan ve akrabalık ilişkisi olmayan 300 kişilik bir populasyon örneğinde Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz enziminin polimorfik özelliği araştırılmıştır. Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz fenotipleri, selüloz asetat elektroforezi ile ayırılmış, fenotip bantları agarlı reaksiyon jeli aracılığıyla görünür hale getirilmiştir. Gen frekansları gen sayımı yöntemi ile hesaplanmıştır.

Kahramanmaraş yöresi için G-6-PD gen frekansları $G_d B=0.9976\pm 0.0023$, $G_d A=0.0024\pm 0.0023$ olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada, elektroforetik olarak incelenebilen enzim eksikliği ile ilişkili varyantlara rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: G-6-PD, polimorfizm, populasyon genetiği, Kahramanmaraş yöresi

Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Enzyme Polymorphism In Kahramanmaraş Area

Abstract

Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase enzyme (G-6-PD) is important because of having direct or indirect roles in biochemical reactions. It is still an investigation subject with several respects for various studies.

In this study, Glucose-6-phosphate Dehydrogenase polymorphism was investigated in a population sample consist of 300 unrelated donors resident in Kahramanmaraş area. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase phenotypes were separated by cellulose acetate membrane electrophoresis, phenotype bands were became visible by reaction gel containing agar. The gene frequencies were calculated by simply gene counting method.

The calculated gene frequencies were as follows: $G_d B = 0.9976\pm 0.0023$, $G_d A=0.0024\pm 0.0023$. In this study, electrophoretic variants related with enzyme deficiency were not observed.

Keywords: G-6-PD, Polymorphism, population genetics, Kahramanmaraş area.

Giriş

Populasyon genetiği çalışmalarında kullanılan eritrosit enzimlerinden birisi de Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz (G-6-PD, EC.1.1.1.49) enzimidir (Weaver ve Hedrick 1989, Oraler-Temizkan 1994, Gaensslen 1984, Saferstein 1982). G-6-PD'nin 1932 yılında keşfinden sonra devam eden çalışmalarla, enzim eksikliğinin tanımlanması (Carson ve ark. 1956), X-kromozomal kalıtım gösterdiğinin saptanması (Childs ve ark. 1958) ve 1960'lı yılların başında çeşitli elektroforetik varyantlarının gösterilmesi (Boyer ve ark. 1962), enzimin genetik, klinik ve biyokimyasal öneminin artmasına neden olmuştur. Tüm hücrelerin sitoplazmasında bulunan enzim, hegzoz monofosfat yolunun ilk basamağını katalizleyerek, vücutta çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar için gerekli olan NADPH (redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oluşumunu sağlamaktadır. Aktif enzim formu, her biri 60 kDa ağırlığında 2 veya 4 identik alt birimden oluşmaktadır. G-6-PD'nin hemen tamamı enzim eksikliği ile ilişkili çok sayıda varyantı tanımlanmıştır (Luzzatto ve Mehta 1995, Fairbanks ve Klee 1999).

Bu çalışmada, Kahramanmaraş yöresinde yaşayan 300 kişilik bir populasyon örneğinde, G-6-PD enziminin polimorfik özelliği araştırılarak gen frekanslarının hesaplanması ve Türkiye'de yapılan populasyon genetiği çalışmalarına yöresel ilave veriler sağlanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Kahramanmaraş yöresinde yaşayan, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan, 15-60 yaşları arasında, 127 bayan, 173 erkek olmak üzere toplam 300 kişiden venöz kan örnekleri alınmıştır.

EDTA'lı tüplere aktarılan kan örnekleri serum fizyolojik (% 0.9'lük) ile üç kez yıkandıktan sonra hemolizatlar, 75 µl eritrosit pelletine 200 µl distile su ilave edilerek hazırlanmıştır. Hemolizatlar kullanılmaya kadar -20°C'de saklanmıştır (Grunbaum 1981).

Hemolizatlar elektroforez tankının (Gelman) katod bölgesine gelecek şekilde, selüloz asetat membranının (Sartorius) 1. pozisyonuna applike edilmiş ve elektroforez işlemi, 100 V'ta 1,5 saat süreyle gerçekleştirilmiştir (Grunbaum 1981).

Elektroforezi takiben selüloz asetat membranı, daha önceden petri kutularına dökülerek hazırlanan ve Tris (pH 8.0), MgCl₂, glukoz-6-fosfat, NADP (okside nikotinamid adenin dinükleotid fosfat), MTT (dimetiltiazol difeniltetrazolyum bromid) PMS (fenazin metosülfat) ve noble agar içeren reaksiyon jeline ters çevrilerek yapıştirilmiştir. Fenotip bantları belirene kadar 37 °C'de 5-10 dakika inkübasyonu takiben fenotipler makroskobik olarak değerlendirilmiştir (Grunbaum 1981).

Gen frekansları, gen sayımı yöntemi ile hesaplanmıştır (Saferstein 1982).

Bulgular ve Tartışma

Kahramanmaraş yöresinde G-6-PD enziminin polimorfik özelliğinin araştırıldığı bu çalışmada gözlenen G-6-PD fenotipleri ve hesaplanan gen frekansları Tablo 1'de verilmiştir.

Bu populasyon örneğinde, nadir fenotiplerden sadece 1 kişide BA fenotipine rastlanmıştır. Çalışmada, Gd B ve Gd A allelleri incelenmiş, enzim eksikliği ile ilişkili elektroforetik olarak incelenebilen allellere rastlanmamıştır.

Tablo 1. Kahramanmaraş Yöresinde G-6-PD Fenotipleri ve Gen Frekansları.

Fenotip	Gözlenen Sayı	Gen Frekansları
B	299	Gd B=0.9976±0.0023
BA	1	Gd A=0.0024±0.0023
Toplam	300	

Rezidual aktivite düzeyi, elektroforetik mobilite, diğer bazı fizikokimyasal ve kinetik çalışmalarla, G-6-PD enziminin çok sayıda varyant alleli olduğu saptanmıştır. Bazıları Türkiye'den olmak üzere (Aksoy ve ark. 1987), günümüze kadar hemen hepsi enzim eksikliği ile ilişkili 400 farklı varyant rapor edilmiştir (Luzzatto ve Mehta 1995, Fairbanks ve Klee 1999).

G-6-PD'nin Gd B alleli, tüm populasyonlarda yaygın olan normal alleldir (Grunbaum 1981, Kay ve ark. 1992). Frekansı; Asya populasyonlarında % 99.5, Beyaz populasyonda % 99.2 oranlarında saptanırken, bu değer Siyah populasyonda % 74.3 olarak rapor edilmiştir (Grunbaum 1981). Afrika'da yaygın olarak görülen Gd A alleli, bilinen en eski varyant alleldir ve normal aktiviteye sahip enzim oluşumunu sağlayabilmektedir (Luzzatto ve Mehta 1995). Frekansının; Asyalı'larda % 0.1, Beyaz'larda % 0.3, Siyah populasyonda ise % 19.3 olduğu saptanmıştır (Grunbaum 1981). G-6-PD B'nin % 5-15'i kadar aktivite gösteren enzim oluşumunu sağlayan Gd A- varyantı, Afrika'nın her yerinde yaygın olmakla birlikte, Güney Avrupa'da da önemli frekansta rapor edilmiştir. Ayrıca Beyaz Brezilyalı'larda, Güney Karolina'daki Beyaz'larda ve Korsika'da da saptanmıştır (Luzzatto ve Mehta 1995). Frekansı; Asyalı'larda % 0.1, Siyah'larda ise % 5.8 olarak rapor edilmiştir (Grunbaum 1981).

G-6-PD_{MEDITERRANEAN} varyantı, Kuzey Afrika ülkeleri de dahil olmak üzere Akdeniz çevresindeki ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. Ayrıca Orta Asya ülkelerinde de yaygın olduğu saptanmıştır. Mobilitesi G-6-PD B ile aynı olduğu için elektroforetik ayrımı yapılamamaktadır. Ancak aktivite B'nin % 5'inden daha az olmak üzere önemli oranda azalmıştır (Luzzatto ve Mehta 1995).

G-6-PD polimorfizminin genetik epidemiyolojisi, allellerin genel dağılımını ve bir populasyonda enzim eksikliğinden sorumlu olan polimorfik allel serilerinin dağılımını göstermesi açısından önem taşımaktadır. Çünkü G-6-PD enzim eksikliği dünyada yaklaşık 400 milyon insanda görülmektedir ve hemoglobinopatilerden sonra en yaygın görülen kalıtsal hastalıktır.

Eminsoy (Eminsoy 1995), Türkiye'nin değişik yörelerinde yaşayan 250 kişiye ait kan örneklerinde G-6-PD fenotiplerini araştırmış ve bu populasyon örneğinde sadece B fenotipine rastladığını bildirmiştir.

Atlıoğlu ve ark. (1996) ise, Türkiye'nin değişik yörelerinden Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesi'ne, babalık tayini için gönderilen 220 örnekte G-6-PD gen frekanslarını araştırmışlardır. Gen frekanslarını Gd B=0.998±0.002, Gd A=0.002±0.002 olarak bildirmişlerdir.

Sonuç

Kahramanmaraş yöresinde G-6-PD enzim polimorfizminin araştırıldığı bu populasyon örneğinde, Gd B ve Gd A allelleri saptanmış, enzim eksikliği ile ilişkili elektroforetik olarak incelenebilen varyantlar gözlenmemiştir. Bu çalışmada elde edilen gen frekansları, Athoğlu ve ark. (1996) tarafından Türkiye için saptanan gen frekansları ile uygunluk göstermektedir.

Kaynaklar

- Aksoy, K., G.T. Yüreğir, N. Dikmen, I. Ünlükurt., 1987. Three New G6PD Variants, G6PD Adana, G6PD Samandağ, and G6PD Balcalı in Çukurova, Turkey. *Hum Genet*, 76:199-201.
- Athoğlu E., M. Öztürk, M.A. Canlı, H. Gündüz, S. Yılmaz, Ö. Kulusayın, 1996. Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz Enziminin Türk Populasyonundaki Gen Frekansı. 8. Ulusal Adli Tıp Günleri Poster Sunuları, Dilek Ofset, İstanbul, s:133-134.
- Boyer S.H., I.H. Porter, R.G. Weilbaecher, 1962. Electrophoretic Heterogeneity of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and its Relationship to Enzyme Deficiency in Man. *Proc Nat Acad Sci*, 48:1868-1876.
- Carson P.E., C.L. Flanagan, C.E. Ickes, A.S. Alving, 1956. Enzymatic Deficiency in Primaquine-Sensitive Erythrocytes. *Science*, 124:484-485.
- Childs B., W. Zinkham, E.A. Browne, E.L. Kimbro, J.V. Torbert, 1958. A Genetic Study of a Defect in Glutathione Metabolism of the Erythrocytes. *Bull Johns Hopkins Hosp*, 102:21-37.
- Eminsoy G., 1995. Türk Populasyonunda ADA ve G6PD Sistemlerinin Polimorfizmi ve Adli Bilimlerde Uygulama Alanları. Doktora tezi, Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.
- Fairbanks V.F., G.G.Klee., 1999. Biochemical Aspects of Hematology. In: Tietz *Textbook of Clinical Chemistry*. (Ed: Burtis C.A. ve E.R. Ashwood), 3th ed, WB Saunders Company, London, pp:1645.
- Gaenssle R.E., 1984. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology, and Biochemistry. US Government Printing Office, Washington, pp: 293-320.
- Grunbaum B.W., 1981. Handbook for Forensic Individualization of Human Blood and Bloodstains. Sartorius GmbH, California, pp:73.
- Kay A.C., W. Kuhl, J. Prchal, E. Beutler, 1992. The Origin of Glucose-6-Phosphate-Dehydrogenase (G6PD) Polymorphism in African-Americans. *Am J Hum Genet*, 50:394-398.
- Luzzatto L., A. Mehta, 1995. Glucose 6-phosphate Dehydrogenase Deficiency. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*. (Ed: Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D.). 7th ed, McGraw-Hill, Inc., New York, pp:3367-3398.
- Oraler-Temizkan O., 1994. Genetik. 2. Baskı, İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, Yayın No:229, s:249-266.
- Saferstein R., 1982. *Forensic Science Handbook*. Simon and Schuster Com., New Jersey, pp:358-3373.
- Weaver R.F., P.W. Hedrick., 1989. *Genetics*. W.M.C. Brown Pub., Iowa, pp:493-516.