N-ASETİLASYON REAKSİYONLARININ İNSAN GÖĞÜS (MEME) KANSERİ İLE İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

PROJE NO: SBAG-1839

Doç.Dr. Tülin Güray

ŞUBAT 1999
ANKARA

ÖZ

N-ASETİLASYON REAKSİYONLARININ İNSAN GÖĞÜS (MEME) KANSERİ İLE İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Şubat, 1999, 45 sayfa

Asetil Koenzim A'ya bağımlı arilamin N-asetiltransferazlar (NATlar) (E.C. 2.3.1.5.) insan dahil, çeşitli hayvan türlerinde yer alan konjugasyon reaksiyonlarının önemli polimorfik üyelerindendir. Çeşitli arilamin ve potansiyel kanserojenlerin detoksifikasyon/toksifikasyon reaksiyonlarında önemli rol oynarlar. İnsanlar, diyet ve sigara dumanını da içine alan değişik kaynaklardan, mutajen ve kanserojenlere maruz kalmaktadırlar. Meme epitel hücreleri, bu kanserojenleri metabolize ederek, DNA'ya bağlanabilen maddeler haline getirme özelliğine sahiptir.

Bu çalışmada, insan meme bezindeki, dokuya özel NAT aktivitesi çalışılmış ve dokudaki asetilasyonun, kandaki asetilasyon ile bağlantısı incelenmiştir.

İnsan kanserli ve kansersiz meme dokusundan ve kanından N-asetiltransferaz enzimleri izole edildi ve p-aminobenzoik asit (PABA, NAT1'e özel substrat), sülfametazin (SMZ, NAT2'ye özel substrat) konsantrasyonlarının, pH ve ısı değişimlerinin enzim aktivitesi üzerindeki etkileri gibi bazı biyokimyasal özellikleri çalışıldı. İzole edilen NATların maksimum aktivitesi için, optimum koşullar hem meme dokusu hem de kan için belirlendi.

Meme ve kandaki NATların kinetik değerlerini belirlemek için PABA substrat olarak kullanılmıştır. Meme ve kandaki Vmax ve Km değerleri, sırasıyla, 114×10^{-3} nmol/dak/mg protein, 613×10^{-3} nmol/dak/10^9 eritrosit ve 13 μM, 38 μM'dır.

6.5-9.0 pH değerleri arasında elde edilen aktivite-pH eğrileri, meme asetilasyonu için pH 8.5'da, kandaki asetilasyon için pH 7.5'da optimum değerler göstermiştir. Isı değişimlerinin etkisine bakıldığında ise her iki dokuda da enzimlerin yaklaşık 50°C'de en yüksek aktiviteyi verdiği gözlenmiştir. Her ikiside ısıya dayanıklıdır.

NAT1 ve NAT2 enzim aktivitelerinden elde edilen kinetik bilgiler, bireylerin yavaş, orta ve hızlı asetilatör olarak sınıflandırılabileceğini açığa çıkarmıştır. NAT1 ve NAT2 enzim aktivitelerinde yaklaşık olarak, sırasıyla, 3.5 ve 40 kat değişim gözlenmiştir. Kandaki ve dokudaki spesifik (özgül) aktiviteler arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar kelimeler: Asetil Koenzim A'ya bağımlı arilamin N-asetiltransferazlar, NATlar, N-asetiltransferaz, N-asetilasyon, NAT1, NAT2, meme kanseri.

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN HUMAN BREAST CANCER AND N-ACETYLATION REACTIONS

February, 1999, 45 pages

Acetyl Coenzyme A dependent arylamine N-acetyltransferases (NATs) (E.C. 2.3.1.5.) are important polymorphic participants in conjugation reactions of animal species including humans. They are involved in detoxification/toxification reactions of various arylamines and potential carcinogens. Humans are exposed to mutagens and carcinogens from various sources including diet and cigarette smoke. Mammary epithelial cells have the ability to metabolize those carcinogens into DNA binding species.

In this study, the tissue specific activity of NATs in human mammary glands was studied and the correlation between blood and tissue specific acetylations was also examined.

Human cancerous and non-cancerous breast tissue, and blood N-acetyltransferases were isolated and some of their biochemical properties like the effect of p-aminobenzoic acid (PABA, NAT1 specific substrate) and sulphamethazine (SMZ, NAT2 specific substrate) concentrations, pH, and temperature were studied.

The kinetic constants for breast and blood NATs were determined by using PABA as substrate. Vmax values were found as $114x10^{-3}$ nmoles/min/mg protein, and $613x10^{-3}$ nmoles/min/10^9 erytrocytes and Km values were found as 13 μM and 38 μM for breast and blood, respectively.

The pH-activity curves obtained ranging from 6.5 to 9.0 showed optimum pH at 8.5 for breast acetylation and pH 7.5 for blood acetylation. For the temperature studies, both breast and blood NATs showed the highest activity around 50°C. Both are heat resistant.

The kinetic data on NAT1 and NAT2 activities of breast tumor tissues revealed that individuals could be classified as slow, intermediate and rapid acetylators. Approximately, 3.5 and 40 fold variations in activity of NAT1 and NAT2 were detected, respectively. No correlation between blood and tissue specific activities was observed.

Key words: Acetyl Coenzyme A dependent arylamine N-acetyltransferases, NATs, N-acetyltransferase, N-acetylation, NAT1, NAT2, breast cancer.