

Tavuk ve Piliçlerin Eritrositleri ile Kan Plazmasındaki Glutatyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerinde Araştırmalar

Hayati ÇAMAŞ*
Mübeccel ANTAPLI**

ÖZET

Bu araştırmada, tavuklarla piliçlerin eritrositleri ile kan plazmasındaki glutatyon peroksidaz (Se-GSH-Px) değerleri saptanmıştır. Ayrıca eritrositlerdeki glutatyon peroksidaz aktiviteleri ile plazmadaki glutatyon peroksidaz aktiviteleri arasında korrelasyonlar da araştırılmıştır.

Araştırma materyali olarak, Bursa ili Geçit Köyündeki bir işletmeden sağlanan 10 adet, 6 aylık, ISA-Brown Egger (Altın Tavuk) tavukla 8 adet, 52 günlük Broiler (Hubbard) piliç olmak üzere toplam 18 adet hayvan kullanılmıştır.

Tavukların eritrositlerinde Se-GSH-Px aktivitesi; ortalama $50,35 \pm 8,44$ U_{37}/g Hb, kan plazmasında ise $0,012 \pm 0,001$ U_{37}/mg protein ($0,30 \pm 0,03$ U_{37}/ml plazma) olarak bulunmuştur. Piliçlerin eritrositlerinde Se-GSH-Px aktivitesi; ortalama $72,42 \pm 4,43$ U_{37}/g Hb iken, plazmada bu değer $0,015 \pm 0,003$ U_{37}/mg protein ($0,39 \pm 0,04$ U_{37}/ml plazma) olarak saptanmıştır.

Ne tavuklarda ve ne de piliçlerde, eritrositlerdeki Se-GSH-Px aktiviteleri ile aynı enzimin kan plazmasındaki aktiviteleri arasında, istatistiki yönden önemli bir korrelasyon bulunamamıştır.

Hem eritrositlerdeki ve hem de kan plazmasındaki enzim seviyesinin literatür verilerine göre düşük olduğu görülmüştür. Bu bulgular, araştırma materyali olarak kullanılan tavuk ve piliçlerde, selenyum yönünden yetersiz bir beslenmeyi işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: Glutatyon peroksidaz, Eritrosit, Kan Plazması, Tavuk, Piliç.

* Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı, Bursa — TÜRKİYE

** Araş. Gör.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı, Bursa — TÜRKİYE

ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über die Aktivitæten der Glutathionperoxidase in den Erythrocyten und im Blutplasma von Legehennen und Hühnchen

Bei dieser untersuchung wurden die aktivitaeten der glutathionperoxidase (Se-GSH-Px) in den erythrocyten und im plasma von legehennen und hühnchen ermittelt. Ausserdem wurden die korrelationen zwischen den aktivitaeten der Se-GSH-Px in den erythrocyten und denjenigen im blutplasma untersucht.

Als versuchstiere wurden 10 legehennen (6 monate alt, ISA-Brown Egger) und 8 hühnchen (von 52 Tagen, Broiler, Hubbard) insgesamt 18 tiere verwendet. Die tiere stammten aus einem vermehrerbetrieb in einem dorf (Geçit Köyü) von Bursa.

Die durchschnittliche aktivitaet der Se-GSH-Px in den erythrocyten von legehennen wurde $50,35 \pm 8,44 U_{37}/g Hb$, im blutplasma $0,012 \pm 0,001 U_{37}/mg$ protein ($0,30 \pm 0,03 U_{37}/ml$ plasma) gefunden. Waehrend der durchschnitliche wertder Se-GSH-Px in den erythrocyten von hühnchen $72,42 \pm 4,43 U_{37}/g Hb$ war, wurde der spiegel des gleichen enzys im blutplasma $0,015 \pm 0,003 U_{37}/mg$ protein ($0,39 \pm 0,04 U_{37}/ml$ plasma) festgestellt.

Weder bei den legehennen noch bei den hühnchen konnte es keine statistisch geischerte korrelation zwischen den aktivitaeten der Se-GSH-Px in den erythrocyten und denjenigen im blutplasma gefunden werden.

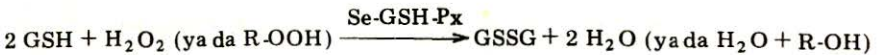
Es wurde beobachtet, dass der enzymspiegel sowohl in den erythrocyten als auch im blutplasma niedriger als die literaturangaben sind. Dieser befund weist auf eine Se-Unter-versorgung bei den untersuchungstieren hin.

Schlüsselwörter: Glutathionperoxidase, Erythrocyte, Blutplasma, Legehenne, Hühnchen.

GİRİŞ

Selenyumun esansiyel bir iz element olduğu 1957 yılından beri bilinmektedir^{16,17}. Ancak bunun asıl esansiyelliği; Flohe ve ark.⁷ ile Rotruch ve ark.¹⁴'nın araştırmaları sayesinde, glutatyon peroksidaz enziminin, kofaktörü olarak görev yaptığı anlaşıldıktan sonra, ispatlanabilmiştir.

Se-GSH-Px, diğer peroksidazların aksine ne hem maddesi ne de flavin taşıır⁶. Ayrıca, hidrojen verici olarak redüklenmiş glutatyon (GSH) karşı son derece spesifik olması ile de diğer peroksidazlardan farklıdır¹³. Peroksit-Substrat spesifitesinin düşük olması sebebiyle, dokularda hidrojenperoksidin (H_2O_2) yıkılması, organik hidroperoksid (R-OOH) üzerinden lipid ve prostaglandin oksidasyonuna kadar uzanır^{9,10,11}. Se-GSH-Px enzimi tarafından katalize edilen reaksiyonda, peroksitler suya ya da alkole redüklenir ve GSH de glutatyon-disülfide (GSSG) oksitlenir.



Hücre membranlarının stabilitesini sürdürmesi açısından bu reaksiyon son derece önemlidir. Çünkü, hücresel membranların yapısında bulunan doymamış yağ asitleri, bu reaksiyonla oksidasyona karşı korunmaktadır. Hücrenin bu koruyucu fonksiyonu izole edilmiş rat karaciğerinde gösterilmiştir^{2,19}.

Civcivlerde, plazma ve diğer organlardaki Se-GSH-Px aktivitesinin alınan selenyum miktarına bağlı olduğu gözlenmiştir³.

Diğer taraftan; genç tavuklarda, plazmadaki Se-GSH-Px aktivitesinin rasyon-daki selenyum miktarına bağlı olduğu, ihtiyacın üzerinde selenyum verilmesinin, yumurtlamayan tavuklarda, plazmanın enzim seviyesinde ilave bir artış sağlamadığı da saptanmıştır^{1 5}.

Gerek yem maddelerinde ve gerekse hayvansal dokularda selenyum tayini oldukça güç ve masraflıdır^{2 2}. Bu nedenle, tavukların selenyum temininin incelenmesinde; daha çok eritrositlerdeki ve kan plazmasındaki Se-GSH-Px aktivitesinin tayinine baş vurulmaktadır. Bu parametrelerin, selenyumun en iyi göstergesi olduğu bildirilmektedir^{8, 15, 21}.

Bu çalışmada; Bursa yöresinde yetiştirilen tavuk ve piliçlerin eritrositlerinde ve kan plazmasında Se-GSH-Px aktivitesinin saptanması; bu suretle, hayvanların yeterli düzeyde selenyum temin edip etmediklerinin dolaylı olarak araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca eritrositlerdeki Se-GSH-Px aktiviteleri ile aynı enzimin kan plazmasındaki aktiviteleri arasındaki korrelasyon da araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, Bursa ili Geçit köyündeki bir işletmeden sağlanan 10 adet, 6 aylık ISA-Brown Egger (Altın Tavuk) tavuk ve 8 adet, 52 günlük Broiler (Hubbard) piliç olmak üzere toplam 18 hayvan kullanılmıştır.

Kan, 13.6.1985 tarihinde, hayvanların kesilmesinden sonra, V. jugularis'ten EDTA'lı tüplere alınmıştır.

Eritrosit hemolizatları ve plazmalar Wollgien²¹ tarafından belirtilen yöntemlere göre hazırlanmıştır.

Eritrositlerde ve kan plazmasında Se-GSH-Px aktiviteleri tayini Wendel'e göre²⁰ yapılmıştır.

Hemoglobin miktarı siyanomethemoglobin metoduna⁴, total protein miktarı da Biuret metoduna⁵ göre tayin edilmiştir.

Enzim testleri 37°C ve 366 nm dalga boyunda uygulanmıştır. Analiz işlemleri taze kan üzerinde yapılmıştır.

Bu çalışmada elde edilen ortalama değerler, standart hata, korrelasyon katsayısı ve t değerleri Batu ve ark.¹ göre hesaplanmıştır.

BULGULAR

Tavuklarla piliçlerin eritrositlerinde ve kan plazmalarında saptanan ortalama Se-GSH-Px aktivitesi, standart hata ve sınır değerler Tablo I'de gösterilmiştir. Ayrıca tavuk ve piliçlerin kanındaki hemoglobin değerleri ile kan plazmasındaki total protein değerleri yine aynı tabloda kaydedilmiştir. Tavuk ve piliçlerin eritrositlerindeki Se-GSH-Px aktiviteleri ile aynı enzimin plazmadaki aktiviteleri arasında saptanmış olan korrelasyon katsayısı ve bu korrelasyonun istatistikî önemini gösteren t değerleri de Tablo II'de verilmiştir.

Tablo: I

Tavuk ve Piliçlerin Eritrositlerinde ve Kan Plazmasında Glutasyon Peroksidaz (Se-GSH-Px) Aktiviteleri. Ayrıca Hemoglobin ve Total Protein Değerleri de Gösterilmiştir.

	T A V U K					P İ L İ Ç				
	Se-GSH-Px U/g Hb	Se-GSH-Px U/mg Protein	Se-GSH-Px U/ml Plazma	g Hb/ 100 ml	mg Pro- tein/ml	Se-GSH-Px U/g Hb	Se-GSH-Px U/mg Protein	Se-GSH-Px U/ml Plazma	g Hb/ 100 ml	mg Pro- tein/ml
\bar{X}	50.35	0,012	0,30	8.14	24.9	72.42	0,015	0,39	8.65	29.8
$S\bar{x}$	8.44	0,001	0,03	0,71	2.01	4.43	0,003	0,04	0.52	4.72
Min	4.41	0,002	0,04	5.72	16.8	54.35	0,007	0,15	6.88	17.3
Max	93.87	0,019	0,42	11.25	35.4	96.86	0,026	0,54	10.56	51.5
n	10	10	10	10	10	8	8	8	8	8

Se - GSH - Px = Kofaktör olarak Se kullanan Glutasyon peroksidaz Hb = Hemoglobin

Tablo: II

Tavuk ve Piliçlerin Eritrositlerindeki Se-GSH-Px Aktiviteleri İle Aynı Enzimin Plazmadaki Aktiviteleri Arasındaki Korrelasyonlar

	Korrelasyon	Korrelasyon Katsayısı (r)	t
Tavuk	Se-GSH-Px — Se-GSH-Px U/g Hb U/mg Protein	0,195	0,562
Piliç	Se-GSH-Px — Se-GSH-Px U/g Hb U/mg Protein	— 0,532	1,538

Eritrositlerdeki enzim aktiviteleri $U_{37/g}$ Hb olarak verilmiştir. Korku ve stres gibi çeşitli fizyolojik faktörlere bağlı olarak plazmanın su miktarı değiştiğinden²¹, kan plazmasındaki Se-GSH-Px aktiviteleri sadece $U_{37/ml}$ olarak değil, aynı zamanda $U_{37/mg}$ protein olarak da gösterilmiştir.

Tablo II'den de anlaşıldığı gibi, tavuk ve piliçlerde eritrositlerdeki Se-GSH-Px aktivitesi ile plazmadaki enzim aktiviteleri arasında istatistiki yönden önemli bir korrelasyon bulunamamıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tablo I incelendiğinde ISA-Brown Egger tavuklarla, Broiler piliçlerin gerek eritrositlerinde ve gerekse kan plazmalarında saptanmış olan Se-GSH-Px aktivitesinin; Wollgien²¹'in genç tavuklarda elde etmiş olduğu değerlerden çok düşük olduğu görülmektedir. Adı geçen araştırmacı plazmadaki maksimal Se-GSH-Px aktivitesine (yaklaşık $0,096 U_{37/mg}$ protein), yemin her kg kuru maddesi $0,2$ mg selenyum içerdiği zaman ulaşabilmiştir. Aynı araştırmacı, yemdeki bu selenyum miktarına karşılık, eritrositlerdeki Se-GSH-Px aktivitesini ise $123,4 U_{37/g}$ Hb olarak bulmuştur.

Combs³ civcivlerde yapmış olduğu araştırmalarda, kan plazmasındaki Se-GSH-Px aktivitesinin, diyetle alınan selenyum miktarına bağlı olduğunu göstermiştir.

Öte yandan Schâfer ve ark.¹⁵'da, tavuklarda selenyumun ihtiyaca yeterli düzeyde alınması halinde, plazmada maksimal Se-GSH-Px seviyesine ulaşıldığını, ihtiyacın üzerinde selenyumun ise adı geçen enzim değerlerinde ilave bir artış sağlamadığını saptamışlardır. Schâfer ve ark.¹⁵, Gabrielsen ve Opstvedt⁸ ile Wollgien²¹'in araştırmaları ışığında, bu çalışmada saptanmış olan, gerek eritrositlerdeki ve gerekse kan plazmasındaki Se-GSH-Px aktivitelerinin çok düşük olduğu söylenebilir. Mattson¹², Scott¹⁸ ve Wollgien²¹'in selenyum ihtiyacına ilişkin önerileri dikkate alındığında, elde edilmiş Se-GSH-Px aktivitelerine tekabül eden, yemdeki selenyum miktarları, ihtiyacın çok altında olmalıdır.

Sonuç olarak, araştırma hayvanlarının sağlandığı işletmede; gerek tavukların ve gerekse piliçlerin, selenyum yönünden yetersiz beslendiği kanısına varılmıştır. Hayvanlardan beklenen verime ulaşılabilmesinde, bu noksanlığın giderilmesi gerektiği söylenebilir. Ancak bu durumun; rasyondaki esansiyel bir selenyum noksanlığına mı, yoksa emilimi olumsuz yönde etkileyen diğer faktörlere mi bağlı olduğunun tesbit edilmesi gerektiğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. BATU, S., ARITURK, E. ve KUTSAL, A.: "Evcil Hayvanlarda İstatistik Varyasyon (Biometrik)", A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları 138, Ankara (1962).
2. BURK, R.F., NISHIKI, K., LAWRENCE, R.A. and CHANCE, J.: Peroxide removal by selenium-dependent and selenium-independent glutathione peroxidases in hemoglobin free perfused rat liver. J. Biol. Chem., 253: 43-46 (1978).
3. COMBS, JR., G.F.: Metabolism and nutrition. Influences of dietary vitamin E and selenium on the oxidant defense system of the chick. Poul. Sci., 60: 2098-2105 (1981).

4. EPPENDORF GERAETEBAU: "Gesamteiweiss im Serum, Photometrische Mikrolitermethaden", AV 532 M, Netheler + Hinz, GmbH, Hamburg (1971).
5. EPPENDORF GERETAEBAU: "Haemoglobin im Blut, Photometrische Mikrolitermethoden", AV 850, Netheler + Hinz GmbH, Hamburg (1971).
6. FLOHE, L., SCHAICH, E., VOELTER, W. und WENDEL, A.: Glutathionperoxidase. III. Spektrale Charakteristika und Versuche zum Reaktionsmechanismus. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 352: 170-180 (1971).
7. FLOHE, L., GÜNZLER, W. and SCHOCK, H.H.: Glutathione peroxidase: a selenoenzyme FEBS Lett., 32: 132-134 (1973).
8. GABRIELSEN, B.O. and OPSTVEDT: A. biological assay for the determination of availability of selenium for restoring blood plasma glutathione peroxidase activity in selenium-depleted chicks (1980).
9. HAMBERG, M., SEVENSSON, J., WAKABAYASHI, T. and SAMUELSSON, B.: Isolation and structure of two prostaglandin endoperoxidases that cause platelet aggregation. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71: 345-349 (1974).
10. LITTLE, C. and O'BRIAN, P.I.: An intracellular glutathione peroxidase with a lipid peroxide substrate. Biochem. Biophys. Res. Comm., 31: 145-150 (1968).
11. LITTLE, C.: Steroid hydroperoxides as substrates for glutathione peroxidase. Biochim. Biophys. Acta, 284: 375-381 (1972).
12. MATTSSON, A.: Selenium in animal husbandry in Scandinavia. Feedstuffs, 54 (9): 21-23 (1982).
13. MILLS, G.C.: The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes. J. Biol. Chem., 234: 502-506 (1959).
14. ROTRUCK, J.T., POPE, A.L., GANTHER, H.E., SWANSON, A.B., HAFEMANN, D.G. and HOEKSTRA, W.G.: Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science, 179: 588-590 (1973).
15. SCHAEFER, K., MAENNER, K. und BRONSCH, K.: Einfluss von Selenzulagen auf die Glutathion Peroxidase Aktivitaet in Erythrocyten, Plasma und Leber bei jung-und Legehennen (1982).
16. SCHWARZ, K., BIERI, I.G., BIRGGS, G.M. and SCOTT, M.C.: Prevention of exudative diathesis in chicks by factor 3 and selenium. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 95: 621-625 (1957).
17. SCHWARZ, K. and FOLTZ, C.M.: Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. J. Am. Chem. Soc., 79: 3292-3293 (1957).
18. SCOTT, M.: Nutritional and biochemical aspects of selenium in poultry. Feedstuffs, 49 (22): 19-20 (1977).
19. SIES, H. and SUMMER, K.H.: Hydroperoxide-metabolizing systems in rat liver. Eur. J. Biochem., 57: 503-512 (1975).
20. WENDEL, A.: Glutathione peroxidase. In: Methods in Enzymology, Vol. 77, s. 325-333 (1981).
21. WOLLGIEN, D.: Untersuchungen zur Selenversorgung von Junghennen. Inaugural - Dissertation, Journal Nr 1160, Berlin (1983).