

Kuzuların Kanında Methemoglobin ve Vitamin C Değerleri ile Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz Aktivitesi Üzerinde Araştırmalar

Hayati ÇAMAŞ*
Hilal ERGUN**

ÖZET

Bu çalışmada, kuzuların kanında Methemoglobin ve Vitamin C değerleri ile Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz aktiviteleri araştırılmıştır.

Araştırmada elde edilen sonuçlar Tablo I'de kuzuların kanındaki Methemoglobin değerleri ile Vitamin C ve Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz aktiviteleri arasındaki korrelasyonlar da Tablo II'de özetlenmiştir.

ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über den Gehalt an Methaemoglobin, Vitamin C und die Aktivitaeten der Glukose-6-Phosphate Dehydrogenase im Blut der Laemmer

Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, um den Gehalt an Methaemoglobin, Vitamin C und die Aktivitaeten der Glukose-6-Phosphate Dehydrogenase im Blut der Laemmer zu ermitteln. Gleichzeitig wurden auch Zuordnungen zwischen den Gehalt an Methaemoglobin und dem Wert an Vitamin C, den Aktivitaeten der Glukose-6-Phosphate Dehydrogenase des Blutes untersucht.

Die Untersuchungsergebnisse sind in der Tabelle I und die Korrelationen zwischen den einigen Blutparametern in der Tabelle II angegeben.

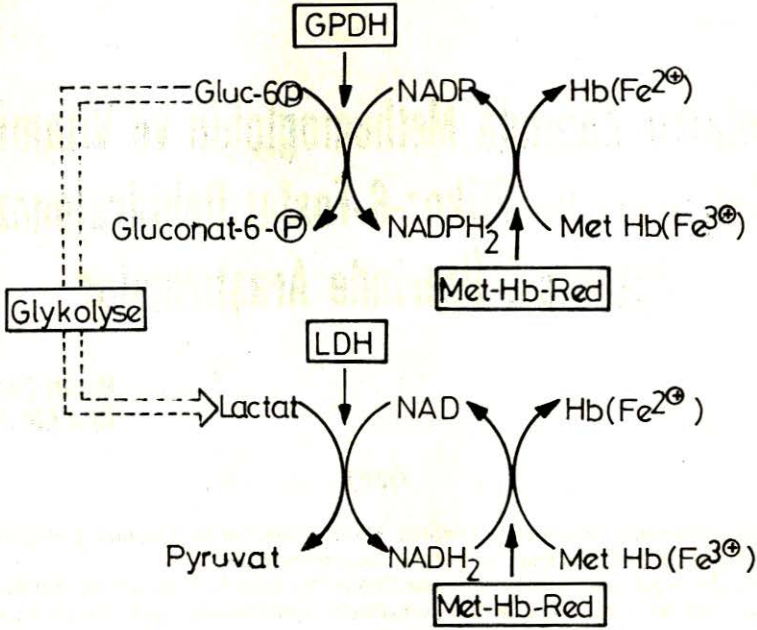
Schlüsselwörter: Methaemoglobin, Vitamin C, Glukose-6-Phosphate Dehydrogenase, Lamm, Blut.

* Doç. Dr.; Uludağ Üniv. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı, Bursa -- TURKEI

** Doç. Dr.; Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı, Ankara -- TURKEI

GİRİŞ

Eritrositlerde karbonhidrat metabolizması ile bağlantılı olarak, methemoglobin nasıl redüklendiği Şekil 1'de gösterilmiştir¹⁸.



Şekil: 1
Methemoglobinin Redüksiyonu¹⁸. GPDH = Glüköz-6-Fosfat
Dehidrojenaz, LDH = Laktat Dehidrojenaz,
Met-Hb-Red. = Methemoglobin Reduktaz

Methemoglobinin tekrar hemoglobin'e indirgenmesi askorbik asit ile hızlandırılır⁶. Nitekim Umehara ve Inoue²¹, eritrositlere askorbik asit ilâve ederek methemoglobinin redüklendiğini göstermişlerdir.

Besinlerle ve içme suları ile alınan nitrat ve nitritler hayvansal organizmada methemoglobinemi'ye sebep olurlar^{10,11}.

Gerek insanlarda ve gerekse hayvanlarda methemoglobinemi nitritler tarafından meydana getirilir¹⁰. Hayvansal organizmaya giren nitratlar, mide bağırsak kanalında nitritlere¹¹ redüklenirler. Ancak nitrat tarafından methemoglobinemi'nin oluşturulmasında çeşitli faktörlerin rol oynadığı bildirilmektedir².

Kandaki methemoglobin değeri, sindirim kanalındaki nitrit miktarına bağlıdır. Nitekim Kemp ve arkadaşları⁷ rumen sıvısındaki nitrit seviyesi ile kandaki methemoglobin değerleri arasında pozitif bir korrelasyon bulmuşlardır. Öte yandan sığır-

larda, tüketilen nitrat miktarı ile kandaki methemoglobin yüzdesinin pozitif bir ilişki içinde olduğu bildirilmektedir³.

İneklere damar içi yolla yada oral olarak KNO_2 verilmek suretiyle, kandaki hemoglobinin % 30-48 oranında methemoglobin'e dönüştüğü gösterilmiştir^{1,4}.

Bazı inhibitörlerle rumen mikroorganizmalarındaki Nitrat-Reduktaz enziminin aktivitesi düşürüldüğünde, Methemoglobin şekillenmesi durdurulmaktadır. Sığırların rasyonlarına sodyum tungtat ilave edilerek, böyle bir sonuca ulaşılabilmektedir^{8,9}.

Sığırlarda kaba yemin alınma hızı da nitratın alınma hızı ile methemoglobin şekillenmesi hızını etkiler. Kaba yemdeki nitrat miktarı biliniyorsa, nitrat alınması ile methemoglobin formasyonu arasındaki ilişkiden, kaba yemin miktarının hesaplanabileceği Geurink ve arkadaşları⁴ tarafından bildirilmektedir.

Bu çalışmada, kuzuların kanındaki methemoglobin ve Vitamin C değerleri ile Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz aktivitelerinin saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca Vitamin C methemoglobinin redüksiyonunu hızlandırdığından⁶, Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz da Methemoglobin-Reduktaz enziminin kofaktörlerinden biri olan $NADPH_2$ 'i ürettiğinden⁸, kandaki methemoglobin değerleri ile vitamin C ve Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz aktivitesi arasındaki ilişkinin araştırılması da uygun görülmüştür. Öte yandan, incelenen parametrelerde, ırk farklılıklarının olup olmadığını araştırmak için, çalışma iki ayrı ırk üzerinde yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Araştırma materyali olarak, kesim için E.B.K. Bursa Et Kombinasına gelen 6-8 aylık 20 baş dişi Karacabey Merinosu kuzularla, yine aynı yaşta 20 baş dişi Akkaraman kuzu olmak üzere toplam 40 baş kuzu kullanılmıştır.

Kan 16.8.1983 ile 17.8.1983 tarihlerinde, kesimden önce V.jugularis'den alınmıştır.

Tüm analizler, kan alma işleminden hemen sonra, taze kan üzerinde yapılmıştır.

Methemoglobin tayini Hailine metoduna göre, Hemoglobin tayini de Crosby ve arkadaşlarının siyanomethemoglobin metoduna göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır^{1,9}.

Tüm kanda vitamin C değerleri, 2,4-Dinitrofenil hidrazin ayırıcı kullanılarak mikroteknikle tayin edilmiştir⁷.

Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz değerlerine gelince:

$Glikoz-6-Fosfat + NADP^+ \rightleftharpoons 6-Fosfoglikonat + NADH + H^+$ reaksiyonu gerçekleşince, $NADPH$ teşekkülünün hızı, enzim aktivitesinin bir ölçüsüdür. Bu da 340 nm yada 366 nm'de absorpsiyon artışının ölçülmesi ile tayin edilebilir^{1,3}. Bu çalışmada, Sigma Firması tarafından, belirtilen esasa göre hazırlanmış Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz kitlerinden yararlanılmıştır¹.

BULGULAR

Kuzuların tüm kanında elde edilen biyokimyasal parametreler Tablo I'de özetlenmiştir. İki ayrı ırka mensup kuzuların, kan parametreleri arasındaki farkın istatis-

tiki yönden önemini gösteren t-değerleri de yine aynı tabloda gösterilmiştir. Bazı kan parametreleri arasındaki korrelasyon katsayıları da Tablo II'de verilmiştir.

Tablo: I
Karacabey Merinosu Kuzularla Akkaraman Kuzuların Kanında Methemoglobin, Vitamin C ve Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz Değerleri. Ayrıca Hemoglobin Miktarı da Verilmiştir.

Araştırılan Kan Parametreleri (untersuchte Blutparameter)		K.Merinosu Kuzular (Mer- inolammer)	Akkaraman Ku- zular Akkara- manlammer)	t- Değerleri (t- Werte)
Methemoglobin (%) (Methaemoglobin %)	\bar{X}	3.52	5.17	1.672
	$S\bar{x}$	± 0.33	± 0.93	
	% V	41.53	80.25	
	Min	1.8	1.0	
	Max	5.9	17.1	
	n	20	20	
Methemoglobin (mg/100 ml) (Methaemoglobin mg/100 ml)	\bar{X}	434.05	628.25	1.410
	$S\bar{x}$	± 43.75	± 130.56	
	% V	45.08	92.78	
	Min	100.0	101.0	
	Max	959.0	2578.0	
	n	20	20	
Vitamin C ($\mu\text{g}/100$ ml) (Vitamin C, $\mu\text{g}/100$ ml)	\bar{X}	871.15	778.05	1.720
	$S\bar{x}$	± 47.55	± 25.84	
	% V	24.41	14.85	
	Min	588.0	576.0	
	Max	1506.0	1035.0	
	n	20	20	
Glikoz-6-Fosfat-Dehidrojenaz (U/g Hb) (G-6-PDH, U/g Hb)	\bar{X}	3.67	3.06	1.993
	$S\bar{x}$	± 0.19	± 0.24	
	% V	23.74	35.12	
	Min	1.73	0.64	
	Max	5.51	4.77	
	n	20	20	
Hemoglobin (g/100 ml) (Haemoglobin g/100 ml)	\bar{X}	12.36	11.71	0.918
	$S\bar{x}$	± 0.53	± 0.47	
	% V	19.13	18.10	
	Min	8.4	7.5	
	Max	18.8	15.6	
	n	20	20	

Tablo: II
Karacabey Merinosu Kuzularla Akkaraman Kuzuların Kanında Bazı
Parametreler Arasındaki Korrelasyonlar (r)

Kan Parametreleri (Blutparameter)	Karacabey Merinosu Kuzular (r) (Merinolammer)	Akkaraman Kuzular (r) (Akkaramanlammer)
Methemoglobin (%)-Vitamin C	- 0.735**	- 0.658**
Methemoglobin (%)-G-6-PDH	- 0.455*	- 0.874**

G-6-PDH = Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz

* P < 0.05 ** P < 0.01

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada elde edilen G-6-PDH aktivitesi, Maronpot¹⁵ ile Herz ve arkadaşlarının⁵ koyunlarda tesbit ettikleri değerlere göre nisbeten yüksektir.

Diğer taraftan her iki ırka ait kuzularda elde ettiğimiz methemoglobin sonuçları da Seerley ve arkadaşlarının²⁰ koyunlara ait değerlerine göre yüksek bulunmuştur. Nitekim tablo I'de bu değerlerin Karacabey Merinosu kuzularda ortalama % 3.52, Akkaraman kuzularına ise % 5.17 olduğu görülmektedir. Sınır değerlere bakıldığında, bunun Akkaraman kuzularında % 17,1'e kadar yükseldiği yine aynı tabloda fark edilmektedir. Normal kandaki methemoglobin değerlerinin % 1 civarında tutulması gerekirken¹⁸, daha yüksek değerlerin elde edilmiş olması, bu araştırmada materyal olarak kullanılan kuzuların kanında, hemoglobini oksitleyen bir maddenin mevcut olabileceğini düşündürülebilir. Bazı kuzularda methemoglobin değerinin % 17,1'e kadar yükselmiş olması, Hemoglobinin oksitlenmesinde rol oynayan maddenin uzunca bir süre yüksek konsantrasyonda bulunabileceği yada methemoglobin redüksiyon sisteminin arızalı çalışabileceği kanısını uyandırmaktadır. Çünkü Seerley ve arkadaşları²⁰, kuzularda % 16'lık bir methemoglobin değerine, ancak kuzulara 11 hafta boyunca su ile 1000 ppm nitrat vermek suretiyle ulaşabilmişlerdir.

Öte yandan Berenda ve arkadaşları² verilen yüksek nitrat miktarına rağmen, danalarda böyle yüksek methemoglobin yüzdesine ulaşamadıkları halde; Kemp ve arkadaşları⁷, benzer çalışmalarında sığırlarda % 40'a kadar ulaşan methemoglobin değerleri elde edebilmişlerdir. Nakamura ve arkadaşları¹⁶ da yakın sonuçlar almışlardır.

Koyunların kan plazmasındaki vitamin C değerlerine ilişkin literatür verileri mevcut ise de¹², tüm kana ait vitamin C değerlerine rastlanamamıştır.

Tablo II'den de anlaşılacağı gibi, kuzuların kanındaki % methemoglobin değerleri ile vitamin C ve G-6-PDH aktiviteleri arasında önemli ölçüde negatif korrelasyonlar saptanmıştır. Bundan kanlarında yüksek seviyede vitamin C değeri ile G-6-PDH aktivitesi gösteren fertlerin, düşük methemoglobin yüzdesine sahip oldukları anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak, yüksek düzeyde Vitamin C ve G-6-PDH değerlerine sahip bireylerde, hemoglobin oksitleyici maddelerin daha iyi tolere edilebileceği söylenebilir.

Ancak bu parametrelerin diğer türlerde de araştırılması gerektiği ve variabilitenin yüksek olması sebebiyle daha fazla sayıda materyal üzerinde çalışmasının yararlı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. ANON: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH)— Quantitative ultraviolet kinetic procedure for blood. Sigma Tech. Bulletin No. 345-UV, Missouri, U.S.A., (1980).
2. BERENDE, P.L.M., TERLUIN, R.W., VAN DER WAL, P.: High doses of nitrate in rations for milk-fed calves. *Z. Tierphys. Tierernaehrng u. Fultermittelkunde* 42(6), 312-321, (1969).
3. GEURINK, J.H., MALESTEIN, A., KEMP, A. and TH. VAN'T KLOOSTER, A.: Nitrate poisoning in cattle. *Neth. J. Agric. Sci.* 27, 268-276, (1979).
4. GEURINK, J.H., MALESTEIN, A., KEMP, A., KORZENIOWSKI, A. and TH. VAN'T KLOOSTER, A.: Nitrate poisoning in cattle. 7 Prevention. *Neth. J. Agric. Sci.* 30, 105-113, (1982).
5. HERZ, F., KAPLAN, E. and GLEIMAN, E.J.: Acetylcholinesterase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in erythrocytes of fetal, newborn and adult sheep. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 124(4), 1185-1187, (1967).
6. HOFMANN, E.: *Intermediaerstoffwechsel. Dynamische Biochemie Teil III*, 2. Auflage, Akademik-Verlag, Berlin (1971).
7. KEMP, A., GEURINK, J.H., HAALSTRA, R.T. and MALESTEIN, A.: Nitrate poisoning in Cattle. *Neth. J. Agric. Sci.* 25, 51-62, (1977).
8. KORZENIOWSKI, A., GEURINK, J.H. and KEMP, A.: Nitrate poisoning in cattle. *Neth. J. Agric. Sci.* 28, 16-19, (1980).
9. KORZENIOWSKI, A., GEURINK, J.H. and KEMP, A.: Nitrate poisoning in cattle. *Neth. J. Agric. Sci.*, 29, 37-47, (1981).
10. LIEBENOW, H.: Nitrate und nitrite in ihrer Beziehung zu Mensch und Tier. *Arch. Tierernaehrung* 13, 255-260, (1963).
11. LIEBENOW, H.: Nitrate und nitrite in ihrer Beziehung zu Mensch und Tier. *Arch. Tierernaehrung* 22, 281-293, (1972).
12. LONG, C. and SPON, F.N.: *Biochemists' Handbook*, London, W.C. (1961).
13. LOHR, G.W. and WALLER, H.D.: Glucose-6-Phosphate dehydrogenase. In: (Edited by: H.U. Bergmeyer) *Methods of Enzymatic Analysis*, Academic Press, New York and London, (1965).
14. MALESTEIN, A., GEURINK, J.H., SCHUYT, G., SCHOTMAN, A.J.H., KEMP, A. and TH VAN'T KLOOSTER, A.: Nitrate poisoning in cattle. *Vet. Quarterly* 2(3), 149-159, (1980).
15. MARONPOT, R.R.: Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione deficiency in sheep. *Canad. J. Comp. Med.* 36(1), 55-60, (1972).
16. NAKAMURA, Y., YOSHIDA, J., NAKAMURA, R. and HORRE, H.: Nitrate metabolism of microorganisms in the rumen of sheep fed high nitrate forages. *Jap. J. Zootech. Sci.* 47(2), 63-67, (1976).
17. NATELSON, S.: *Microtechniques of Clinical chemistry*. 2. Edn., Springfield,

- Illinois, U.S.A., (1961).
18. RAPOPORT, S.M.: *Medizinische Biochemie*, 7. Auflage, VEB Verlag, Volk und Gesundheit, Berlin, (1977).
 19. RODIER, J. et MALLEIN, R.: *Manuel de Biochimie Pratique*. Librairie Maloine, Paris, (1968).
 20. SEERLEY, R.W., EMERICK, R.J., EMBRY, L.B. and OLSON, O.E.: Effect of nitrate or nitrite administered continuously in drinking water for swine and sheep. *J. Anim. Sci.* 24(14), 1014-1019, (1965).
 21. UMEHARA, Y., INOUE, K.: The effect of ascorbic acid on methemoglobin reduction mechanism. *Res. Bull. of Obihoro University*, I, 10(4), 793-802, (1978).