

*A.Ü.Veteriner Fakültesi Fizyoloji Kürsüsü*  
*Prof.Dr.Talât Konuk*  
*A.Ü.Veteriner Fakültesi Biyokimya Kürsüsü*  
*Prof.Dr.Ethem Ersoy*

## **ULTRAVİYOLE IŞINLAMASININ LEGHORN IRKI TAVUK- LARDA KAN SERUMU TOTAL PROTEİN İLE PRO- TEİN FRAKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

**Fahri Bölükbaşı\***

**Nihat Bayşu\*\***

### **The Effect of ultraviolet radiation on serum total protein and protein fractions in Leghorn hens**

**Summary:** Serum total proteins and protein fractions were determined in Leghorn hens after a 2.5 year irradiation by ultraviolet light emitting from mercury vapor lamps, used as 16 hours per day.

A statistically significant increase from controls was obtained in serum total globulin, especially due to the  $\gamma$ -globulin fraction and a decrease in serum albumin content. The increments in serum total proteins and in  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulin fractions were not statistically significant.

**Özet:** Günde 16 saat süreyle kullanılan civa buharlı lambalardan yayılan ultraviyole ışığıyla 2.5 yıllık bir ışınlamadan sonra Leghorn tavuklarda serum total proteinleri ve protein fraksiyonları saptanmıştır.

Serum total globulininde kontrollara nazaran, özellikle  $\gamma$ -globulin fraksiyonundan ileri gelen istatistik önem taşıyan bir artış ve serum albumin miktarında bir azalma görülmüştür. Serum total proteinleri ile  $\alpha$ - ve  $\beta$ -globulin fraksiyonlarındaki artışların istatistik önem taşımadığı anlaşılmıştır.

### **Giriş**

Yeryüzünde yaşamın sürekliliğini sağlayan en önemli enerji, güneşten gelen radyant enerjidir. Işık yaşamın fotosentez, görme ve fotoperiyodizm şeklindeki üç ana olayını aktive eder ve bu aktivasyonda özel pigmentler aracı olurlar (12). Güneş enerjisi görünür ışık, enf-

\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Kürsüsü Doçenti.

\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Kürsüsü Doçenti.

raruj ve ultraviyole biçimindeki elektromanyetik radyasyondan kuruludur (7,8,10). Spektrumun alt fraksiyonunu (200–390 nm) oluşturan ultraviyole radyasyonunun, güneş ışığının biyolojik etkilerinin pek çoğundan sorumlu bulunduğu ve enzim sistemlerini inaktive etmek, protoplazmadaki kolloidal maddeleri koagülasyona uğratmak ve nükleoproteinlerin denaturasyonu biçiminde biyolojik etkiler doğurduğu bildirilmektedir (7).

Kısa (200–285 nm) ve orta dalga boyulu (285–320 nm) ultraviyole ışınlarının deriye fazla girememelerine rağmen (8), kısa süreli uygulamaları halinde şekillenen verilerin stres reaksiyonlarındakilere benzemesi, lokal etkiler yanında muhtemelen hipofiz aracılığı ile başlatılan genel etkiler de görüldüğü birçok araştırmacıların dikkatini çekmiştir (7,8,17,23).

1939 yılında Loofbourow ve arkadaşları (17), ışının etkiyebildiği bölgede hücrelerin zedelenerek, hücrenin ve dolayısıyla canlının büyümesini uyaran ve adenin, guanin, pentoz ve fosfor taşıyan bir “yara hormonu” şekillendiğini bildirmektedirler. Fotokimyasal bir mekanizma ile epidermisten oluştuğu sanılan histamin benzeri bu maddenin sekonder pek çok sistemik etkilere de sahip olabildiği anlaşılmaktadır (7,8,10,20).

Plazmadaki protein konsantrasyonunu düzenleyen faktörler tamamen anlaşılmış değildir ve bu işte çeşitli fizyolojik, patolojik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı ve çevresel faktörlerin hipofiz aracılığıyla tiroid, böbrek üstü bezleri ve gonadlardaki hormonal aktiviteyi etkilediği sanılmaktadır (14). Besin kaynaklarından sağlanan kan amino asitleri, vücudun protein sentezi olaylarında primer materyali teşkil etmekte ve civcivlerde plazma ile kanın hücrenel komponentleri arasında amino asit dağılımı yönünden bir hareketlilik bulunmaktadır (21). Tavukta plazma proteinlerinin tanımlanma ve sınıflandırılmasında çeşitli yöntemler bildirilmiş ise de, hemen hepsinin esası özellikle elektroforetik ayrımlara dayanmaktadır (4,9,11,14,15,16,18,22). Normal kanatlı ve memeli plazması veya serumundaki proteinlerin başlıca fraksiyonlarının benzer elektroforetik hareket yeteneğinde oldukları ve sonuçların da pek farklı olmadığı bildirilmektedir (4). Ancak total protein kanatlılarda (4 gr./100 ml.kadar) memelilerdekinden (7 gr./100 ml.kadar) daha az (4,11) ve globulinlerin albumine oranı hayli yüksek bulunmaktadır (4,14,15,18). Lenfositler yoluyla kana globulinlerin sağlanması hipofiz ön lobu kontrolü altında olup (3), özellikle vücut savunmasında rol oynayan gamma globulinler antikor teşekkülüyle ilgilidirler (3,14) ve tavuklar antikor meydana ge-

tirme açısından üstün yetenektedirler (14). Yangı halinde dolaşım kanında nötrofiller artarak, lizozomal enzimlerle bakteri ve doku yıkıntıları sindirilmeye çalışılır (3). Goranov ve Kovachishki (9), 7 günlük civcivleri ilk 10 gün günde 5 dakika, daha sonra günde 10 dakika süreyle 60 günlük oluncaya kadar, 500 watt'lık bir kuvarz lamba ile irradiye ettikleri deneyleri sonucunda, total protein ve protein fraksiyonlarının değişmediğini, ancak serumda daha yüksek bir lizozom aktivitesi görüldüğünü, ağırlık artışı ve ölüm oranlarında bir fark oluşmadığını bildirmektedirler.

Literatürde, yaz sıcaklığının (13) ve plazma proteinlerinin çoğunun biyosentezinden sorumlu olan karaciğerde çeşitli hastalıklara bağlı lezyonlar oluşmasının (5), albumin miktarını genellikle azaltarak, gamma globulin miktarını artırdığına, kışın ise albumin/globulin oranındaki farklılığın tersine dönüştüğüne ve güneş ışığının protein metabolizmasını hızlandırdığına (13) dair kayıtlar görülmektedir.

Normal kanatlı kan serumundaki protein fraksiyonları konusunda literatürde homojen bir ifadeye rastlanmamaktadır.

Pavel ve arkadaşları (18), kâğıt elektroforezi ile beyaz leghorn tavuklarda pH = 8 olduğta 5 globulin fraksiyonu, pH = 9'da ise 3 globulin fraksiyonu oluştuğunu bildirerek, total proteinin 4.27 gr/100 ml. olduğunu ve bunun % 20 kadarını albuminin, gerisini globulinin teşkil ettiğini, pH = 9'daki 3 globulin fraksiyonundan birincisinin % 18.3-25.8, ikincisinin % 14.0-17.4 ve üçüncüsünün % 47.6-59.1 arasında bulunduğu ifade etmektedirler.

Jusko-Grundboeck (15), Polbar ırkı bir günlük civcivlerdeki düşük serum protein düzeyinin (% 1.91 gr), bir yaşında % 4.74 grama yükseldiğini, leghorn tavuklarda total proteinin % 5.32 ± 0.57 gram olduğunu ve bunun 1.40 ± 0.60 gramını albuminin, 0.48 ± 0.05 gramını α-globulinin, 0.35 ± 0.04 gramını β-globulinin ve 2.71 gramını da γ-globulinin oluşturduğunu ve albumin/globulin oranının 0.45 civarında bulunduğunu bildirmektedir.

Huston ve Subhas (14), kanatlılarda biüret yöntemine göre saptadıkları total plazma proteininin % 2.97-4.56 gram arasında olduğunu, selüloz poliasetat (seprafor III strip) Gelman hızlı elektroforez yöntemiyle de bu proteinin % 33-46'sının albumin, % 4.42-13.60'ının α<sub>1</sub>-globulin, % 6.15-7.88'inin α<sub>2</sub>-globulin olduğunu ve albumin-globulin oranının 0.42-0.86 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Butler (4), 9 haftalık kanatlılarda 4 gr/100 ml. olan total proteinin % 42.1 albumin, % 3.4 α<sub>1</sub>-globulin, % 6.6 α<sub>2</sub>-globulin, % 8.7

$\beta_1$ -globulin, % 7.8  $\beta_2$ -globulin, % 17.4  $\gamma_1$ -globulin, % 14.0  $\gamma_2$ -globulin şeklinde kurulduğunu, albumin/globulin oranının da 0.73 kadar olduğunu belirtmektedir.

Koudela ve arkadaşları (16), 12 günlük 30 adet erkek civcivde günlük değişimleri saptamak amacıyla kan serumundaki total protein değerlerini biüret yöntemi ve serum protein fraksiyonlarını elektroforez yöntemi kullanarak yürüttükleri denemeler sonucunda protein fraksiyonları arasında önemli değişimler görülmediğini bildirmekte, albuminin % 45.08-52.90,  $\alpha$ -globulinin % 9.13-12.22,  $\beta$ -globulinin % 15.32-17.75 ve  $\gamma$ -globulinin % 21.98-24.95 arasında bulunduğunu ifade etmektedirler.

Torres-Medina ve arkadaşları ise (22), normal civciv serumunda selüloz asetat elektroforezi ile 8 ayrı protein bandı elde ettiklerini ve bunların % 2.26 prealbumin, % 65.92 albumin, % 5.77  $\alpha_1$ -globulin, % 4.41  $\alpha_2$ -globulin, % 5.31  $\beta_1$ -globulin, % 5.52  $\beta_2$ -globulin, % 7.72  $\gamma_1$ -globulin ve % 3.09  $\gamma_2$ -globulin şeklinde oluştuğunu bildirmektedirler.

### Materyal ve Metot

Bu araştırmada birisi 2.5 yıl süreyle 160 Watt toplam güçte ve her kademede 8 saat olmak üzere iki kademede günde 16 saatlik bir süre ile ortalama aydınlık şiddeti 84.5 lüks olan civa buharlı lambalarla aydınlatılmış bölmeden 10 irradiye Leghorn tavuk ve diğeri de ısı, ışık ve havanın doğal olarak sağlandığı bölmede bulunan 10 normal Leghorn tavuk olmak üzere toplam 20 tavuk kullanılmıştır. İbiğin yeter miktarda kesilmesi ile serbestçe akmakta olan kandan steril şişelere 2'şer ml. alınarak laboratuvara getirilmiş, serum ayrıldıktan sonra total protein biüret yöntemi (6), protein fraksiyonları ise Gelman selüloz asetat elektroforezi ile (1) saptanmıştır. İki grup arasındaki farklılıkların önem derecelerinin tesbiti için de istatistik uygulamalar yapılmıştır (19).

### Sonuçlar

Uzun süre (2.5 yıl) ultraviyole fraksiyonu fazla ışıkla aydınlatılmış tavuklarla kontrollerdeki serum total protein miktarları ile protein fraksiyonları ortalamaları, standart hataları ve iki grup arasındaki farklılıklar ve önem dereceleri aşağıdaki tablolarda gösterilmektedir.

Tablo: 1.- Normal ve 2.5 yıl süreyle ultraviyole irradilyasyonlu tavukların serum total protein ve protein fraksiyonları ortalamaları ( $\pi \pm$ st. hata).

Grup	Total Protein (% gr.)	Albumin (% gr.)	Total Globulin (% gr.)	A/G oranı	Globulin Fraksiyonları (%gr)		
					$\alpha$ -	$\beta$ -	$\gamma$ -
Kontrol	4.38 $\pm 0.22$	1.71 $\pm 0.07$	2.67 $\pm 0.11$	0.64	0.41 $\pm 0.02$	0.28 $\pm 0.05$	1.98 $\pm 0.12$
UV ışınlı	4.48 $\pm 0.22$	1.45 $\pm 0.10$	3.03 $\pm 0.12$	0.48	0.49 $\pm 0.12$	0.32 $\pm 0.09$	2.22 $\pm 0.02$
Fark	$\pm 0.10$	-0.26*	$\pm 0.36^*$		+0.08	-0.04	+0.24*

\*P&gt; 0.95

Tablo: 2.- Normal ve ışınlanmış tavuklarda protein fraksiyonlarının, total proteine göre yüzde oranları

Grup	Total Protein (% gr.)	Albumin (%)	Total Globulin (%)	Globulin Fraksiyonları (%)		
				$\alpha$ -	$\beta$ -	$\gamma$ -
Kontrol	4.38 $\pm 0.22$	39.04	60.96	9.36	6.39	45.21
UV-ışınlı	4.48 $\pm 0.22$	32.37	67.63	10.94	7.14	49.55
Fark	$\pm 0.10$	-7.97	$\pm 6.67$	+1.58	+0.75	+4.34

Tabloların incelenmesinde irradilyasyonlu tavuklarda albuminin azalmasına rağmen, globulin artışına bağlı olarak serumdaki total proteinin yükseldiği anlaşılmaktadır. Total protein miktarındaki fazlalığın istatistik önemi olmamakla beraber, albumin miktarındaki azalma ile globulindeki artış % 95 güven derecesine göre önemli bulunmuşlardır. Artış, globulinlerin her üç fraksiyonunda da görülmesine rağmen, gamma bölümündeki fazlalaşma istatistik önem taşımaktadır ( $P > 0.95$ ).

### Tartışma

Güneş ışığı spektrumu biyolojik etkilerinin pek çoğundan sorumlu bulunan ultraviyole ışınlarının (7,10) tavuklarda kan serumu total proteini ile protein fraksiyonları üzerinde ne gibi değişimlere neden olabildiği konusunda literatürde yeterli çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu amaçla 2.5 yıl süreyle 160 watt toplam güçte ve günde 16 saat bir süreyle, ortalama aydınlık şiddeti 84.5 lüks olan civa buharlı lambalarla ışıklandırılmış ve bazı hematolojik muayeneler yapılmış (2) leghorn tavuklarda serum total proteini ve protein fraksiyonları saptanmış ve istatistik değerlendirmeleri (19) yapılmıştır.

Biüret yöntemine (6) göre normal ve irradiye tavuklarda bulunduğumuz serum total protein değerleri (sırasıyla  $4.38 \pm 0.22$  ve  $4.48 \pm 0.22$ ), literatürde bildirilen değerlere uygunluk halindedir (4,11,14, 15,16,18,22). Bulgularımıza göre radyasyonla serum total proteini % 2.28 oranında yükselmiş görülmesine rağmen, bu farklılık istatistik önem taşımamaktadır. Goranov ve Kovachishki'nin (9), civcivlerde kuvarz lamba kullanarak yürüttüğü deney sonuçları, total protein ve fraksiyonlarının etkilenmediği şeklinde ve bulgularımıza aykırı ifade taşımakta ise de, iki deney materyali, yöntemi ve süresi arasında benzerliğin bulunmaması, farklı bildirimlerin başlıca nedenini oluşturabilir kanısındayız.

UV radyasyonunun protein ve mineral metabolizmayı, kas tonusunu arttırdığı biçimindeki genel bildirimler (8,13) ve deney materyalimizi teşkil eden tavuklarda alyuvar sayısı ve hemoglobin miktarının yükseldiğinin kaydedilmesi (2), plazmadaki protein konsantrasyonunu etkilemede fizyolojik ve patolojik faktörler yanında rol oynadığı bildirilen çevresel faktörlerin (14), ultraviyole ışınlarını içerdiğini de göstermektedir. Bu açıdan serum total proteinlerinin ultraviyole etkisiyle artmış bulunmasını, istatistik önem taşıyorsa bile, sadece rastlantılara bağlamayı uygun göremiyoruz.

Gelman selüloz asetat elektroforez yöntemi (1) ile normal tavuklarda bulunduğumuz protein fraksiyonları oranları literatür bildirimleriyle uygunluk halindedir (14,15,18). Işınlanmış tavuklarda saptadığımız protein fraksiyonları bakımından da bazı farklılıklar görülmektedir. Sonuçlarımıza göre albumin fraksiyonu 0.26 gr/100 ml. kadar azalmış, total globulin ise 0.36 gr/100 ml.kadar artmıştır. Başka bir deyişle serum total proteininin normallerde % 39.04'ünü oluşturan albumin, irradiye tavuklarda % 32.37 değerine düşmüş, total globulin ise % 60.96 olan oranından % 67.63'e yükselmiştir. Bu değerlere göre kontrol tavuklarında 0.64 olan A/G oranı ışınlanmış tavuklarda 0.48'e düşmektedir. Albümin ve total globulinlere ait bu farklılıklar % 95 güven derecesine göre istatistik önemde bulunmuşlardır. Total globulindeki artışın, her fraksiyonuna ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -) ait yükselmelerden oluştuğu anlaşılmaktadır. Bunlardan  $\alpha$ - ve  $\beta$ - globulinlere ait farklılıklar istatistik önemde bulunmamasına rağmen, özellikle  $\gamma$ - globulinlerdeki artış önemli olmuştur ( $P > 0.95$ ).

Aynı tavuklarda lenfosit yüzdesinin de arttığının bildirilmesi (2), lenfositler yoluyla ve muhtemelen hipofiz ön lobu aracılığı ile kana globulinlerin sağlandığı bildirimleriyle (3) uygunluk halindedir. Lenfositlerin kan  $\gamma$ -globulinlerinin yapımında başlıca sorumluluğu taşımaları (3,14) ve tavukların antikor meydana getirme bakımından

üstün yetenekte olmaları (14), deneyimiz bulgularıyla paralel anlamda bulunmaktadır. Işınlanmış tavuklarda saptanan tüm değişmeler, ışının hipofiz ön lobu aracılığı ile hormonal aktiviteyi de başlattığı görüşlerince (3,7,8,17,20,23) aykırı veriler olmamaktadır.

Gamma globulinlerin artışına karşı albumin fraksiyonunda görülen azalma, albumin ile globulin arasında, birinin artması halinde diğerinin genellikle azaldığı bildirimlerine (5,13) uygun bulunmaktadır. Hensel ve Hildebrandt'ın (13) yaz güneşi ve sıcaklığının albumin/globulin oranını azalttığı biçimindeki ifade ile, UV radyasyonu etkisiyle saptadığımız benzer veriler beraberce ele alındıkta, bu sonuçların oluşumunda güneş ışığı spektrumu ultraviyole fraksiyonunun önemli rol oynaması olasılığı düşünülmektedir.

### Literatür

- 1- **Anon.** (1970): *Clinical electrophoresis. Gelman procedures for special electrophoresis.* Ann. Arbor. Michigan.
- 2- **Bölükbaşı, F.** (1976): *Ultraviyole ışınlamasının Leghorn tavuklarda kan şekilli elementleri, hemoglobün miktarı ve akyuvar formülü üzerine etkisi.* A.Ü.Vet.Fak.Derg., 23 (1-2), 142-152.
- 3- **Breazile, J.E.** (1971): *Textbook of veterinary physiology.* Lea and Febiger, Philadelphia.
- 4- **Butler, E.J.** (1971): *Plasma proteins.* In "Physiology and biochemistry of the domestic fowl". D.J.Bell and B.M. Freeman, eds., Vol.2, Academic Press, London and Newyork, pp.933-961.
- 5- **Cornelius, E.C. and Kaneko, J.J.** (1970): *Clinical biochemistry of domestic animals.* Second edn., I., Academic Press, London and Newyork, XV + 439.
- 6- **Damm, H.C. and King, J.W.** (1965): *Practical manuel for clinical laboratory procedures.* The Chemical Rubber Co. Chem., 48.
- 7- **Dunlap, C.E.** (1966): *Effects of radiation.* In "Pathology", W.A. D.Andersen, ed., Vol.1, The C.V.Mosby Comp., Saint Louis.
- 8- **Glasser, O.** (1964): *Medical physics.* Vol.I, The Yearbook Publishers, Inc., Chicago.
- 9- **Goranov, N. and Kovachishki, Kh.** (1971): *Effects of ultraviolet irradiation on farm animals and poultry.II. Broiler chicks.* Veterinar-nomeditsinski Nauki (Sofia), 8 (No.4), 17-22.
- 10- **Grof, P. and Kovacs, A.** (1967): *On the mode of action of UV-light. Effect of UVA-rays on mast cells in vivo.* Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae, Tomus 32 (1-2), 35-44.

- 11- **Harris, G.C.Jr. and Sweeney, M.J.** (1969): *Electrophoretic evaluation of blood sera proteins of adult male chickens.* Poult.Sci., 48, 1590-1593.
- 12- **Hendricks, S.B.** (1968): *How light interacts with living matter.* Sci.Am., 219 (3), 175-186.
- 13- **Hensel, H. and Hildebrandt, G.** (1964): *Organ systems in adaptation: The muscular system.* In "Adaptation to the environment." D.B. Hill; E.F. Adolph and C.G.Wilber, eds., Am.Physiological Soc., Washington, D.C., 73-90.
- 14- **Huston, T.M. and Subhas, T.** (1969): *The influence of environmental temperature on the plasma proteins of domestic fowl.* Poult.Sci., 48, 997-1000.
- 15- **Jusko-Grundboeck, J.** (1969): *Blood serum protein and its fractions with special regard to growth and physiological cycle of hens.* Polski Archwm wet., 12, 69-98.
- 16- **Koudela, K., Sova, Z., Baloun, F. and Némec, Z.** (1971): *Diurnal rhythms in the serum proteins of white leghorn cockerels.* Vet. Med.Praha, 16, 329-334.
- 17- **Loofbourow, J.R., Cook, E.S. and Stimson, M.M.** (1938): *Chemical nature of proliferation-promoting substances from injured cells.* Nature (Lond), 142, 573-574.
- 18- **Pavel, J., Babak, A. and Svosil, B.** (1967): *Ein Beitrag zur Problematik des elektrophoretischen Studiums des spezifischen Eiweiss- und Lipoprotein-gehaltes im Blutplasma bei Hennen.* Arch.Geflügelk., 31, 61-73.
- 19- **Snedecor, G.W.** (1959): *Statistical methods.* The Iowa State College Press, Amcs, Iowa, XIII + 534.
- 20- **Spode, E.** (1956): *Untersuchungen über die Strahlenreaktion des Blutes. VI. Veränderungen des peripheren Blutbildes nach UVB-Bestrahlung.* Strahlentherapie, 99 (3), 482-488.
- 21- **Squbb, R.L.** (1971): *Effect of lighting regimen on the diurnal distribution of amino acids between blood cells and plasma of chicks.* Poult. Sci., 50 (2), 491-495.
- 22- **Torres-Medina, A., Rhodes, M.P. and Mussman, H.C.** (1971): *Chicken serum proteins: A comparison of electrophoretic techniques and localization of transferrin.* Poult.Sci., 50 (4), 1115-1121.
- 23- **Wight, P.A.L.** (1971): *The pineal gland.* In "Physiology and biochemistry of the domestic fowl." D.J.Bell and B.M.Freeman, eds., Vol.I, Academic Press, London and Newyork, pp.569-570.