

A.Ü. Veteriner Fakültesi Temel Bilimler (F.K.B.) Bölümü
ve Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi
Doç. Dr. Kaya Göksoy Dr. İhan Ölmez

ÇİFTLİK HAYVANLARINDA MİNERAL MADDE DENGESİZLİKLERİNİN TANISINDA RADYOMİNERAL'LERİN "İN-VİTRO" KULLANILMASI

Bölüm I

K. Göksoy¹ D. Kut² S. Özsar³ A. Öncüer⁴

In-vitro Use of Radiominerals to Detect Mineral Imbalances in Farm Animals

Summary: *In this study "in-vitro" erythrocyte radio-selenium uptake test was developed to detect selenium status of sheep. The method used by other investigators was modified by the use of Citrate-Phosphate-Dextrose (CPD) solution during incubation period.*

After two hours incubation period of 5 ml blood + 0.7 ml CPD + 0.3 ml radioactive solution (0,4 µCi radioactive Se as Na₂⁷⁵ Se O₃) in the 25 ml erlenmayer flask at 38°C and 95 % O₂ + 5 % CO₂ media, 2 ml blood transferred to counting tubes and centrifuged. The plasma was discarded and the corpuscular part were washed with cold isotonic saline. Radioactivity of the corpuscular part were measured and calculated as the percentage of initial activity.

* Bu çalışma Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı-Viyana tarafından desteklenmiştir, Contract No: RC/1869/TUR

1. Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fak. Temel Bilimler Bölümü ve Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi Veterinerlik ve Hayvancılık Bölümü.

2. Kimya Y. Müh. Dr. Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi Nükleer Kimya Bölümü.

3. Biyolog, Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi Veterinerlik ve Hayvancılık Bölümü.

4. Vet. Hekim, Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi Veterinerlik ve Hayvancılık Bölümü.

To evaluate the in-vitro erythrocyte radio-selenium uptake test results i. blood selenium concentration by Thermal Neutron Activation Analysis, ii. plasma clearance of radio-selenium and iii. in-vivo erythrocyte radio-selenium uptake were also determined.

It seems that the use of modified in-vitro erythrocyte radio-selenium uptake test will be suitable to determine selenium status of ewes according to the comparison of the result obtained from different methods.

Özet: *Bu çalışmada, koyunlarda selenyum durumunu saptamak için Radyoaktif selenyum kullanılarak "in-vitro" eritrosit radyo-selenyum alım testi geliştirilmiştir. Diğer araştırmacılar tarafından uygulanan in-vitro test uygulamalarından farklı olarak, su banyosunda kanın inkubasyonu esnasında erlenmayer'e CPD (Citrate-Phosphate-Dextrose) çözeltisi ilave edilmiştir.*

İçerisinde 5 ml kan + 0.7 ml CPD + 0.3 ml radyoaktif çözelti (0.4 µ Ci radyoaktif Se, Na₂⁷⁵Se O₃ halinde) bulunan 25 cc lik erlenmayerler % 95 O₂ + % 5 CO₂ ortamında iki saat süre ile 38°C da inkube edilmişlerdir. Inkubasyondan sonra 2 ml kan aktivite sayım tüplerine nakledilerek santrifüj edilmişlerdir. Plazmaları atılmış ve korpüsküler kısım soğuk serum fizyolojikle yıkanmıştır. Korpüsküler kısmın radyoaktivitesi ölçülmüş ve standart aktivitenin % si olarak değerlendirilmiştir.

In-vitro eritrosit radyo-selenyum alım sonuçlarını değerlendirmek için i. termal nötron aktivasyon analizi ile kanın korpüsküler kısmının selenyum miktarı ii. radyo-selenyum'un plazmadan çekilişi iii. in-vitro eritrosit radyo-selenyum alımları da saptanmıştır. Bunlardan elde edilen sonuçlar in-vivo test sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Bu durum, değiştirilmiş in-vitro eritrosit radyo-selenyum alım testi'nin koyunlarda selenyum durumunu saptamada kullanılabilceği ümidini vermektedir.

Giriş

Çiftlik hayvanlarında mineral madde dengesizlikleri kıl dökülmesi ve depigmentasyon, parakeratosis, enfeksiyon hastalıklarına bağlı olmayan yavru atmalar, devamlı ishal, anemi, iştahın kaybolması, kemiklerde teşekkül bozuklukları, tetani, yavru veriminde düşme, kavruk kalma ve pika gibi klinik bulgularla ortaya çıkar. Mineral Madde Dengesizlikleri hayvancılıkta verim düşüklüğüne yol açan çok önemli faktörlerden birisidir (1, 2, 3, 4, 5).

Yukarıda sıralanan klinik bulgulardan birisinin ortaya çıkması, o klinik bulguya ilişkin bir mineral yetmezliğin tanısı için bazen yeterli olabilir. Bu durum, o mineral elementin ileri derecede yetmez-

liği halinde ortaya çıkar. Klinik ve patolojik bulgulara dayanarak tanısı mümkün olan durumlarda hayvana rasyonla veya diğer yollarla eksikliği duyulan mineralin yeteri kadar verilmesi çok kere symptom'un ortadan kaldırılması ve tedavi için yeterlidir (4, 5, 6). Örneğin Orta Anadolu Bölgesinde kuzularda seyreden Muscular Distrophy'nin (Beyaz Kas Hastalığı) yaygınlığı, spesifik klinik ve patolojik bulguları ile tanıyı kolaylaştırmaktadır (6, 7, 8, 9). Ancak, şiddetli seyreden mineral dengesizliklerde tanının konvansiyonel yöntemlerle kolayca saptanabilmesine karşın, organizmadaki marjinal (normale yakın) düzeyde mineral yetmezliklerinin, özellikle eser element dengesizliklerinin tanısı, doku ve organlardaki mineral konsantrasyonlarının saptanmasında hassas yöntemlerin kullanılmasını gerektirmektedir. Çiftlik hayvanlarında marjinal düzeyde seyreden mineral dengesizlikler gözle görülür bir bulgu ile kolayca seçilemez fakat verim açısından en az şiddetli yetmezlikler kadar önemlidir (10, 11).

Hayvanlarda mineral madde dengesizliklerinin tanısında doku ve organlardaki mineral madde konsantrasyonları kriter olarak ele alınmaktadır (11, 12). Doku ve organlarda mineral, özellikle eser element konsantrasyonlarını saptamada nötron aktivasyon analizi, X-ışını floresan tekniği gibi nükleer, atomik absorpsiyon ve diğer spektrofotometrik ve bazı analitik yöntemler kullanılmaktadır. Marjinal düzeyde olan mineral madde dengesizliklerinde klinik, makroskobik bulgular yeterli yararı sağlayamadığı için organizmada ppm düzeyinde yer alan çoğu eser elementlerin konsantrasyonlarını saptamada nükleer yöntemler daha güvenilir sonuç vermektedir (13, 14, 15, 16). Nükleer yöntemler arasında bir de pek yaygın olmayan in-vitro eritrosit radyomineral alım testi (in-vitro radio-mineral erythrocyte uptake) uygulamaları yer almaktadır. Bir kısım araştırmacılar in-vitro test yöntemini kullanarak, kanın korpüsküler kısım radyomineral alım (uptake) oranı ile hayvan tarafından diyetle alınan veya kandaki mineral madde konsantrasyonu arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır. Wright ve Bell (17), Perla ve Arkadaşları (18) ve diğerleri (19) radyoaktif selenyum ($\text{Na}_2^{75}\text{Se O}_3$) ilave edilmiş koyun kanlarını su banyosunda inkube ederek alyuvarlar tarafından radyoaktif selenyum alımının, diyetle alınan selenyum miktarı ile ters orantılı olduğunu saptamışlardır. Radyoaktif çinko (Zn-65) ve Kobalt'la (Co-60) yapılan benzer denemeler de aynı sonucu vermiştir (20, 21, 22).

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmamızda diğer araştırmacılar tarafından uygulanan in-vitro eritrosit radyo-mineral test yönteminde ufak bir değişiklik yapılarak ülkemiz şartlarına uygun bir yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır.

İn-vitro eritrosit radyo-selenyum alımı test sonuçlarını karşılaştırmak ve güvenilirliğini kontrol için'de termal nötron aktivasyon analizi ile total kan selenyum konsantrasyonu, radyoaktif izleme tekniğinden yararlanılarak in-vivo eritrosit radyo-selenyum alımı, radyoaktif selenyumun plazmadan çekilişi (plasma clearance) hızı saptanmıştır (23, 24).

Gözlemlerimiz sonucu, Ankara'nın Çubuk İlçesi'nin Sünni Köyü deneme bölgesi olarak seçilmiştir. Literatürlerde belirtildiği gibi Orta Anadolu Bölgesinde kuzularda Musculaer Dystrophy oldukça yaygındır (6, 7, 8). Denemeye aldığımız sürüde kuzularda az sayıda Beyaz Kas Hastalığı'na rastlandığı gerek İlçe Veterinerliği gerekse sürü sahibi tarafından belirtilmiştir. Musculaer Dystrophy için genel bir önlem alınmadığı ancak hastalık görülen kuzulara Sodyum selenit ($\text{Na}_2^{75}\text{Se O}_3$) çözeltisinin (1 mg Se/ml) kas içi verilerek tedavi edildiği anlaşılmıştır. Bu duruma göre sürüde "marginal" düzeyde bir selenyum yetmezliği söz konusudur denilebilir.

Deneme için 80 adet kuzulu koyun (Akkaraman) iki gruba ayrılarak kulak numaraları ile belirlenmiştir. In-vitro testlere başlamadan bir ay önce (Nisan 1977) birinci gruba 10 mg Selenyum (1 mg/ml) Sodyum selenit ($\text{Na}_2\text{Se O}_3$) çözeltisi halinde kas içi verilmiştir.

Pozitif kontrol grup olarak, Lalahan Veteriner Zootekni Araştırma Enstitüsü Merinos türü kuzulu koyunlar kullanılmıştır. Bu grubun beslenme şartları normal kabul edilmiştir.

In-vitro Test Yöntemi

Yirmibeş ml lik erlenmayerlerin herbirine 0,7 ml CPD (Citra-te-Phosphate-Dextrose) çözeltisi (25) ve 0,4 μ Ci⁷⁵ Se içeren 0.3 ml radyoaktif çözelti ($\text{Na}_2^{75}\text{Se O}_3$)* konmuştur. Koyunlardan sabah saat 10⁰⁰-12⁰⁰ arası heparinize tüplere Vena Jugularis'ten 10-12

* Radyoaktif ⁷⁵Se ($\text{Na}_2^{75}\text{Se O}_3$) Amersham-İngiltere Radyo-Kimya Merkezinden sağlanmıştır.

ml kan alınmış ve buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Mikrohematokritleri ölçülen kan numunelerinden 5 er ml CPD ve radyoaktif Se çözeltisi bulunan erlenmayerlere ilave edilerek hafifçe karıştırılmıştır. Erlenmayerlerin ağızları lastik tıpa ile kapatılmış ve 12 numara bir enjektör iğnesinin uç kısmı tıpanın alt yüzeyinden görülecek şekilde batırılmıştır. CO₂ ve O₂ tüplerinin gaz çıkışına bağlanan ince plastik borular ucuna yerleştirilmiş enjektör iğneleri lastik tıpalara batırılarak erlenmayer içinde yaklaşık % 5 CO₂ ve % 95 O₂ ortamı sağlamaya çalışılmıştır. Gazlar bir süre verildikten sonra ilk iğne çıkarılmış ve az bir süre daha gaz verilmiştir (17, 18). Yukarıdaki işlemler tamamlandıktan sonra erlenmayerler 38°C da çalkalayıcı su banyosuna nakledilmiştir.

İki saatlik inkubasyondan sonra erlenmayerler buz dolabına nakledilmiş ve tekrar mikrohematokritleri ölçülmüştür. Erlenmayerlerin herbirinden 2 ml kan pipetle radyoaktivite sayım tüplerine alınmış ve 2500 devirde 5 dakika santrifüj edilmişlerdir. Sıvı kısım (plazma + CPD) pastör pipeti ile atılmış, altta kalan korpüsküler kısım üzerine 5 ml soğuk serum fizyolojik ilave edilmiş ve tekrar santrifüj edilerek iki defa yıkanmış, mümkün olduğu kadar sıvı kısım temizlenmiştir.

Sayım tüplerinde kalan korpüsküler kısmın radyoaktivitesi kuyu tipi gama sintilasyon sayacı (Well-type γ Scintillation Counter, Nuclear Chicago) ve bağlı analizör sistemi ile ölçülmüştür.

Korpüsküler kısımdaki aktivite erlenmayere ilave edilen aktivitenin (Standart aktivite) yüzdesi olarak aşağıdaki gibi hesaplanmıştır (17).

$$\% \text{ Aktivite alımı} = \frac{\text{Korpüsküler kısmın aktivitesi (CPM)*}}{\text{Standart aktivite}} \times 100$$

critrosit hacim farkına göre düzeltilmiş sonuç:

$$\text{Eritrosit aktivite alımı} = \frac{\% \text{ aktivite alımı} \times 40}{\text{hematokrit } \% \text{ si}}$$

In-vivo Eritrosit radyo-selenyum alımı ve Radyoaktif Selenyumun plazmadan çekilişi :

Bu deneme, aynı grup hayvanlardan selenyum enjekte edilen ve edilmeyen üçer koyun üzerinde uygulanmıştır. Her koyun için

* CPM dakikada aktivite sayısı.

1 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ radyoaktif selenyum ($\text{Na}_2^{75}\text{Se O}_3$) hesab edilerek sol vena jugularisten enjekte edilmiştir. Radyoaktif selenyumun enjeksiyonundan sonra 8,48 ve 72. saatlerde sağ jugular venadan 5'er ml kan alınmış ve buz kutusunda saklanarak laboratuvara getirilmiştir. Beş dakika 2500 devirde santrifüjden sonra 1 ml plazma radyoaktif sayım tüplerine alınmış, gerisi atılmıştır. Deney tüpünde kalan korpusküler kısım iki defa tuzlu su ile yıkanmış ve kalan kısımdan 1'er ml radyoaktif sayım tüplerine nakledilmiştir (23, 24). Radyoaktivite ölçümleri yukarıda belirtildiği şekilde yapılmıştır.

Termal Nötron Aktivasyon Analizi ile Kan Selenyum Konsantrasyonunun Saptanması :

Yaklaşık 4-5 ml kan soğuk-vakum (Freeze-dryer, Hetosicc CD 12) sistemi ile kurtulmuş ve bir pres (Beckman B 25) yardımıyla 0.5 mm çapında, 2-3 mm kalınlığında tablet haline getirilmiştir.

Standartlar, USA National Bureau of Standards'dan sağlanan sığır karaciğerine (SRM-1577) aynı işlemler uygulanarak hazırlanmıştır. Tablet halindeki örnek ve standartlar tartıldıktan sonra nötron ışınlaması için özel polietilen tüplere yerleştirilmiş ve İstanbul-Çekmece TR-I reaktöründe yaklaşık 10^{13} nötron akısında dört saat süre ile ışınlanmıştır. Aktif hale gelen numune ve standartlar kısa yarılanma süreli radyoizotopların parçalanması için 3-4 hafta bekletilmiş, daha sonra numune ve standartların gama spektrumları, Ge (Li) dedektör ve buna bağlı 4096 kanallı analizör (Canberra M 8180) yardımıyla alınmıştır. Işınlama sonucunda ^{74}Se (n,γ) ^{75}Se reaksiyonu ile oluşan 120 gün yarılanma süreli ^{75}Se in parçalanırken saçtığı 265 keV deki gama (γ) ışınları, numune ve standartlar için aynı şartlarda ölçülmüş ve karşılaştırma tekniği ile kan numunelerindeki selenyum konsantrasyonu hesaplanmıştır (13, 14, 15, 16).

Sonuçlar

In-vitro eritrosit radyo-selenyum alım test ve tüm kan selenyum konsantrasyon değerleri Tablo 1. de gösterilmiştir. Sodyum selenit solüsyonu enjekte edilmeyen grupta in-vitro eritrosit alım yüzde ortalaması $7,84 \pm 2,96$, test'den bir ay önce 10 mg selenyum enjekte edilen grupta ise $6,23 \pm 1,88$ bulunmuştur. İki grup ortalamaları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Pozitif kontrol olarak seçilen Lalahan grubunda ise, in-vitro eritrosit radyo selenyum alımı % ortalaması $5,39 \pm 1,27$ bulunmuştur. Selenyum veril-

meyen ve pozitif kontrol grupları yüzde ortalama değerleri arasındaki fark da önemli bulunmuştur ($P < 0.01$). Buna karşın, selenyum verilen ve pozitif kontrol (Lalahan) grupları yüzde ortalama değerleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($P > 0.01$).

Selenyum verilmeyen grubun kan selenyum konsantrasyonu ortalaması 0.70 ± 0.04 ppm (K.M. = kuru madde), selenyum verilen grubun kan selenyum konsantrasyonu ortalaması ise 1.18 ± 0.09 ppm (K.M) bulunmuştur (Tablo 1). İki ortalama arasındaki fark önemlidir ($P < 0.1$). Pozitif kontrol grubun kan selenyum konsantrasyonu, TR-I reaktörünün kapanmış olması dolayısıyla analiz edilememiştir.

İn-vivo eritrosit radyo-selenyum alımı ve radyo-selenyumun plazmadan çekilişi Grafik 1 de gösterilmiştir. in-vivo eritrosit rad-

Tablo 1. Kas içi selenyum enjekte edilen, edilmeyen ve pozitif kontrol gruplarda in-vitro eritrosit radyoselenyum (^{75}Se) alım yüzdeleri ve Kan Se Konsantrasyonları.

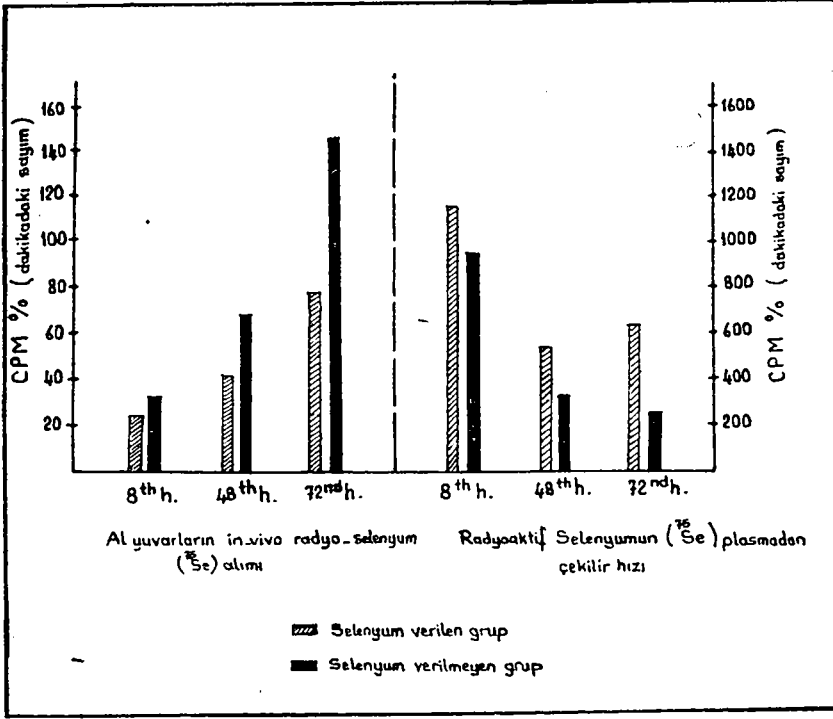
| Deneme Grupları | In-vitro eritrosit ^{75}Se alım % si | Kan se Konsantrasyonu PPM/K.M.(x) |
|--|---|-----------------------------------|
| Selenyum verilmeyen (36) ^{xx} | 7.84 ± 2.96^a | 0.70 ± 0.04^a |
| Selenyum verilen (36) | 6.23 ± 1.88^b | 1.18 ± 0.09^b |
| Pozitif kontrol (Lalahan) (18) | 5.39 ± 1.27^b | — |

(x) K.M.: Kuru Madde.

(xx) Numune Sayısı.

yo-selenyum alımı selenyum enjekte edilen grupta, edilmeyenden daha yüksek bulunmuştur. In-vivo eritrosit radyo selenyum alım hızı selenyum verilmeyen gruba 72. saatte selenyum enjekte edilen grubun hemen hemen iki katına yükselmiştir.

Plazmadan radyo-selenyum çekilişinin (Grafik.1), in-vivo eritrosit radyo-selenyum alımının aksine, beklenildiği şekilde, selenyum enjekte edilmeyen grupta verilenden daha hızlı olduğu saptanmıştır.



Şekil: 1- Selenyum verilen ve verilmeyen gruplarda in vivo eritrosit radyoselenyum (^{75}Se) alımı ve radyoselenyum plazmadan çekilir hızı.

Tartışma

Bir kısım araştırmacılar, çiftlik hayvanlarında in-vitro eritrosit radyo-mineral alım (uptake) test sonuçlarını diyetle alınan veya kanda mevcut eser element konsantrasyonu ile orantılı olduğunu saptamışlardır. Fakat yapılan incelemeler laboratuvar şartlarını kapsamaktadır. Düşüncemiz, Wright ve Bell (17) ve diğer araştırmacılar (18, 19, 20, 21) tarafından uygulanan in-vitro eritrosit radyo-mineral alım test yöntemini geliştirerek saha şartlarına uygulabilmesini sağlamaktır. Bunun için başta gelen sorun, sahada alınan kanın, testin uygulanmasına kadar tazeliğini sağlamaktır. Bu amaçla insan hekimliğinde kan transfuzyon merkezlerinde kullanılan Citrate-Phosphate Dextrose (CPD) çözeltisini kullandık. Gibson ve Arkadaşları (25) Acid-Citrate Dextrose (ACD) ve CPD çözeltilerinin eritrositlerin canlılığını korumadaki üstünlüğünü kar-

şılaştırmışlar ve CPD çözeltisinin daha uygun olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar radyoaktif Krom (^{51}Cr) la etiketledikleri eritrositleri ayrı ayrı her iki çözelti içinde $4^\circ \pm 1\text{ C}^\circ$ da uzun süre tutmuşlar ve 28 gün sonra ACD de saklanan canlı hücre yüzdesinin % 70, CPD de ise 76 olduğunu saptamışlardır. Bu durumda, sahadan aldığımız kanların CPD çözeltisi içerisinde saklanmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır. Fakat bu ön çalışmada, alınan kan numunelerinin inkubasyon esnasında CPD ilavesiyle in-vitro testin çalışıp çalışmayacağını incelemek esas alınmıştır. Kanın uzun süre CPD çözeltisi içinde saklandıktan sonra in-vitro testin çalışıp çalışmayacağı ise bir başka denemede ele alınmak istenmiştir.

In-vitro eritrosit radyo-selenyum test sonuçları (Tablo 1) diğer araştırmacıların elde ettiği sonuçlara benzerlik göstermektedir.

Selenyum verilmeyen grubun eritrosit radyo-selenyum alım yüzdesi ortalaması (% 7.84 + 96), gerek selenyum verilen (% 6.23 \pm 1.88), gerekse pozitif kontrol grup yüzdesi ortalama (% 5.39 \pm 1.27) değerlerinden yüksek ve ortalamalar arasındaki farklar önemli bulunmuştur. Ayrıca değiştirerek uyguladığımız test sonuçlarını kontrol için nötron aktivasyon analizi ile saptanan kan selenyum konsantrasyonu, in-vivo eritrosit radyo-selenyum alımı ve radyo-selenyumun plazmadan çekilişi denemelerinden elde edilen sonuçlar (Tablo 1, Grafik 1) in-vivo eritrosit radyo-selenyum alım sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Pozitif kontrol olarak seçtiğimiz grupta, in-vivo eritrosit radyo selenyum alımı, radyo-selenyum'un plazmadan çekiliş hızı ve nötron aktivasyon analizi ile kanda selenyum konsantrasyonunu çeşitli nedenlerle saptayamadık. Fakat grupların in-vitro test sonuçları, bilhassa iyi beslenme şartları ile normal düzeyde olmayan beslenme şartlarına göre açık farklılık göstermektedir (Tablo 1). Pozitif kontrol grupta in-vitro eritrosit radyo-selenyum alım yüzdesi selenyum verilen gruptan da düşük bulunmuştur. Bu durum enjekte edilen 10 mg selenyumun dahi yetmezlik görülen bölgede normal selenyumun gereksinimi karşılamadığını göstermektedir.

Selenyumun eritrositlere bağlandığı ve seleno-homoglobin oluştuğu, ancak selenyumun eritrositlere, kemik iliğinden çok perifer kanda bağlandığı da bilinmektedir (26, 27). Selenyum ayrıca, kanda ve çeşitli organlarda bir metalo-enzim olan Glutathion peroxidase da yer alır. Glutathion peroxidase enzim aktivitesi ile organizmada selenyum konsantrasyonu arasında açık bir ilişki vardır (26).

Underwood (11) in-vitro eritrosit ⁷⁵Se test sonuçlarının güvenilirliğinin Glutathion peroxidase enzim testi ile kontrol edilmesinin gerekliliğini bildirmektedir. Ancak laboratuvar şartlarımızın yetersizliğinden dolayı ayrıca kanda enzim analizi yapamadık. Fakat sonuçlarımızı diğer testlerle kontrol ettik.

Elde olunan test sonuçlarına dayanarak, in-vitro eritrosit radyo-selenyum test yöntemi ile koyunlarda selenyum durumunu saptamak mümkün görünmektedir.

Tjioe ve Arkadaşları (28), Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı'nın (Viyana) Standart referans maddesi olarak kullandıkları kan numunesinde Nötron Aktivasyon analiz tekniği ile kuru madde üzerinden 0,54 ± 0.4 ppm Se bulmuşlardır. Judson ve Obst (29) çeşitli araştırmacıların elde ettikleri kan Se değerlerini bir araya getirerek bir tablo hazırlamışlardır (5). Bu tabloda gerek yermezlik durumunda gerekse normal düzeyde çok farklı değerler ortaya çıkmaktadır. Bu durum, pratikte henüz hiçbir test ve doku analizi yetmezlik, normal veya marginal düzeyde olan kan Se konsantrasyonunun tam olarak belirtilmesine yetmemektedir. İlerde çeşitli hassas yöntemlerle çok sayıda elde edilecek değerler bize normal ve yetmezlik durumunda kan ve diğer dokular Se konsantrasyonlarını ortaya koyacaktır. Bu gün için elimizde, gerek hastalığın klinik ve morfolojik tanısına dayanarak, gerekse kobalt yetmezliğinde olduğu gibi hayvanlarda döl verimi ve gelişimleri zayıf olan durumlarda, diyeteye ilave edilecek selenyum tuzlarından yararlanma çalışmaları etkin önlem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Şimdiki durumda çalışmalarımız açısından, normal ve yetmezlik durumundaki kan ve doku selenyum değerlerini tam olarak saptayamazsak da in-vitro eritrosit radyo-selenyum test yöntemi ve nötron aktivasyon analizi ile alınan sonuçları karşılaştırmak suretiyle farklı bölge hayvanlarının selenyum durumları hakkında bir fikre sahip olmamız mümkün görünmektedir. Bunun için, değiştirerek uyguladığımız in-vitro eritrosit radyo-selenyum alım testi uygulamalarına standart bir yöntemin geliştirilmesi amacıyla devam etmeyi öngörmekteyiz.

Literatür

- 1- **Mc Dowell, L. R., Conrad, J. H. and Loosli, L. K.,** (1978): *Mineral Deficiencies and Toxicities of Grazing Livestock in Tropical Countries, Presentation paper on the Diagnosis of Moderate Mineral Imbalances in Farm Animals* IAEA, Beltsville, Maryland, Sept 11-14,

- 2- **Mc Dowell, L. R.**, (1977): *Geographical Distribution of Nutritional Diseases in Animals*, Chapter in CRC Handbook of Nutrition and Food University of Florida,
- 3- **Mc Dowell, L. R., and Conrad, J. H.** (1977): *Trace Mineral Nutrition in Latin America*, World Animal Review, 24, 24-33.
- 4- **Underwood, E. J.** (1971): *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Academic Press, Third Ed.
- 5- **Nicholas, D. J. D. and Egan R. A.** (1975): *Trace Elements in Soil Plant-Animal Systems*, Academic Press Inc.
- 6- **Özcan, C.** (1967): *Kuzularda Beyaz Kas Hastalığı Üzerinde Klinik Araştırmalar ve Küratif Tedavi Denemeleri*, A.Ü. Vet. Fak. Derg., 14 (3) 1-17.
- 7- **Baran, S.** (1966): *Türkiye'de Kuzularda Muscular Dystrophie (White Muscule Disease)* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 13 (1) 25-40.
- 8- **Baran, S.** (1966): *Oğlaklarda Musculaer Dystrophie ve Selenyum, Vit. E ve C'nin Rolü*, A.Ü. Vet. Fak. Derg., 13 (2) 135-156.
- 9- **Ersoy, E. Bayşu, N. ve Şentürk, R.** (1966): *Normal ve Beyaz Kas Hastalıklı Kuzularda Kan Serumunda Sodyum, Potasyum ve Klor Yönünden Araştırmalar*, Vet. Fak. Derg., 13 (1) 15-24.
- 10- **Mertz, W.** (1976): *Trace elements in Animal Nutrition, Can a great, potential be realized? Review paper*, Nuclear Techniques in Animal production and Health, IAEA-SM-205/101, 3-16.
- 11- **Underwood, E. J.** (1976) *Material Imbalances in Farm Animals and Their Study and Diagnosis with Isotopic Tracers*, Atomic Energy Review, 14, No: 4, 591-620.
- 12- **Kirchgessner, M. et al** (1976) *Trace Element Deficiency and its Diagnosis by Biochemical Criteria*, Review Paper, Nuclear Techniques in Animal Production and Health, IAEA, SM-205/102. 64-80.
- 13- **Leibetseder, J.** (1969) *Neutron Activation Analysis for the Determination of Selenium in Biological Materials*, Trace Mineral Studies with Isotopes in Domestic Animals, IAEA, (PL-312/3) 77-96.
- 14- **Kut, D.** (1979) *Havadaki Selenyum Miktarının Tayini ve Kaynaklarının İncelenmesi*, Doktora Tezi, A.Ü. Fen Fakültesi, (baskıda).
- 15- **Zoller, W. H. Gordon, G. E.** (1970) *Instrumental Neutron Activation Analysis of Atmospheric Pollutants Utilizing Ge (Li) X-ray Detectors* Anal. Chem. 42, 254-265.

- 16- **Crouthamel, C. E. Adams, F. and Dams, R.**, (1970) *Applied Gamma-ray Spectroscopy*, Pergamon Press,
- 17- **Wright, P. L. and Bell, M. C.** (1963) *Selenium and Vit. E. Influence upon in-vitro Uptake of ⁷⁵Se by Ovine Red Blood Cells*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114, 379-382.
- 18- **Perla, L. et al** (1968) *In-vitro Uptake of ⁷⁵Se by Red Blood Cells from the Immature Ovine during varying Selenium intakes*, J. Nutr., 94, 219-226.
- 19- **Burk, R. F. et al** (1967) *Blood Selenium levels and In-vitro Red Blood Cell Uptake ⁷⁵Se in Kwashiorkor*, Am. J. Cl. Nutr. 20 (7) 723-733.
- 20- **Berry, R. K., Bell, M. C. and Wright, P. L.** (1966): *Influence of Dietary Calcium, Zinc, and Oil upon the in-vitro uptake of Zinc-65 by Porcine Blood Cells*, J. Nutr. 88, 284
- 21- **Chester, J. K. and Marie, W.** (1968): *The Assesment of Zinc Status of an Animal from the Uptake of ⁶⁵Zn by the Cells of Whole Blood in-vitro*, Brit. J. Nutr. 39, No:2, 297-306.
- 22- **Lau, Kam-Seng et al.** (1965) *Measuremut of Vitamin B₁₂ Level Using Radioisotope Dilution and Coated Charcoal*, Blood, 26 No:2, 202-214.
- 23- **Artunkal, Suphi.** (1962): *Radyoizotopların Klinikte Kullanılması*. İ. Ü. Tıp Fakültesi Yayınları
- 24- **Wagner, N. H.** (1968): *Prenciples of Nuclear Medecine*, W. B. Saunders company.
- 25- **Gibson, G. J., Gregory, C. B. and Lawrence, N. B.** (1961) *Citrate-Phosphate Dexrose Solution for preservation of Human Blood*, Transfusion, 1, 280-287.
- 26- **Allen, W. M., et al.** (1975): *Selenium and the Activity of Glutathion Peroxidase Bovine Erythrocytes*, Vet. Record 96 (16) 360-361.
- 27- **Özsar, S., Göksoy, K., Öncüer, A.** *Selenyumun Kemik İliği ve Dalakta Eritrositlerin Yapısına Katılımı Hakkında Bir Ön Çalışma* (yayına hazır)
- 28- **Tjioe, P. S. et al** (1976) *Extended Automated Separation Techniques in Destructive Neutron Activation Analysis, Application to Various Biological Materials, Including Human and Blood*, Proceedings International Conference, Modern Trends in Activation Analysis, Vol. 1, 328-337.