

A.Ü. Veteriner Fakültesi Temel Bilimler (F.K.B) Bölümü
Doç. Dr. Kaya Göksoy

FARELERDE SELENYUMUN ERİTROSİTLERE BAĞLANMASININ RADYOAKTİF İZLEME TEKNİĞİ İLE ÖLÇÜLMESİ

S. Össar*

K. Göksoy** A. Öncüer***

By the Use of Radiotracer Technique Measurement of Binding of Selenium to Erythrocyte in Mice.

Summary: *In this study, in mice by the use of radio-selenium ($Na_2^{75} Se O_3$) whether selenium is bound to erythrocytes during erythropoiesis or not was investigated. After intraperitoneal injection of radioselenium it was found that selenium bind to erythrocytes in peripheral circulation instead of during erythropoiesis in bone-marrow and excreted via faeces and urine.*

Özet: *Bu çalışmada, radyo-selenyum ($Na_2^{75} Se O_3$) kullanılarak, selenyumun farelerde eritropoez'de eritrositlerin yapısına katılıp katılmadığı araştırılmak istenmiştir. İntraperitoneal verilen radyoselenyumun dalak ve kemik iliğinde eritropoez'de eritrositlerin yapısına katılmadığı, daha ziyade sirkülasyonda katıldığı ve selenyumun hızla dışkı ve idrarla organizmadan uzaklaştırıldığı saptanmıştır.*

Giriş

Domuz (1), köpek (2), koyun (3) ve tavuklarda (4) radyo-selenyum verilmesinden sonra, selenyumun kan dolaşımında eritrositlere bağlandığı rapor edilmiştir. Wright ve Bell (5), Perla ve Arkadaşları (6) ve diğer bazı araştırmacılar (7, 8) in-vitro olarak radyo-selenyumun

* Biyolog. AEK Lalahan Veteriner Hekimlik ve Hayvancılıkta Nükleer Araştırma Enstitüsü.

** Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fak. Temel Bilimler Bölümü ve Lalahan Vet. Hekimlik ve Hayvancılıkta Nükleer Araştırma Enstitüsü.

*** Vet. Hek. AEK Lalahan Vet. Hekimlik ve Hayvancılıkta Nükleer Araşt. Enst.

koyun eritrositleri tarafından alınımını (uptake) çalışmışlardır. Sc-75 in koyun eritrositleri tarafından in-vitro olarak alınımının, rasyonla alınan selenyum miktarı ile ters orantılı olduğunu saptamışlardır.

Mc Connel ve Cooper (2), radyo-selenyum enjeksiyonundan sonra köpeklerde kanda, seleno-hemoglobin oluştuğuna tanık olmuşlardır. Adı geçen araştırmacılar eritrositlerin yapısında yer alan heme ve globini izole ederek radioaktif selenyumun dağılımını ölçmüşler ve en çok aktiviteyi sırasıyla heme, hemoglobin ve globinde bulmuşlardır. Fakat araştırmacılar selenyumun kırmızı hücrelere kemik iliğinde bağlanmış olmayacağını da ileri sürmüşlerdir. Bu hususu gözönüne alarak farelerde kemik iliği ve dalakta eritropoiezis'de radyo-selenyum'un heme'in yapısına katılıp katılmadığı araştırılmak istenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Deneme hayvanları, tahminen üçer aylık Swiss albino erkek fareler, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Bölümü'nden sağlandı ve standart fare yemi ile beslendi.

Radyoaktif madde Amersham-İngiltere Radyo-Kimya Merkezi'nden (Sodium Selenite- $\text{Na}_2^{75}\text{Se}$ O_3 -çözeltisi) getirildi. Radyoaktif çözelti 0,2 cc. de 0,5' η Ci radyoaktifite ihtiva edecek şekilde serum fizyolojikle sulandırılarak farelere hafif eter anestezisi altında periton içi enjekte edildi. Fareler üç gruba ayrılarak 6, 12 ve 24 saatlik sürelerin sonunda dalak, kemik iliği heme ve non heme, kan, karaciğer böbrek ve dışkı total aktiviteleri ölçüldü.

Heme ve non-heme fraksiyonların ayırımı:

Dalak 4 cc Drabkin's solüsyonu (9) kullanılarak 2000 devirde 5 dakika homojenize edildi. Sayım tüpüne nakledilen homojenat'ın pH'sı heme'i globind'en ayırmak için 2 ye ayarlandı. Üzerine 4 ml Etil-Metil-Keton (EMK) ilave edildi. Karışımı sağlandıktan sonra 20 dakika oda sıcaklığında ağızları kapalı olarak bırakıldı. Heme EMK da iyice çözünür olduğu için organik fazda (üstte) non-heme bileşikler ise sıvı fazda yer almaktadır. Beş dakika 1500 devirde santifüjden sonra organik faz pastör pipeti ile bir başka sayım tüpüne nakledildi.

Farelerin sağ femur kemik ilikleri ayrı ayrı 2 şer cc Drabkin's solüsyonu kullanılarak ucunda 1 numara enjektör iğnesi bulunan en-

jele yardımı ile saat camlarına aspire edildi. Aspirasyondan sonra radyoaktivite sayım tüplerine nakledilen kemik iliğinin homojenize edilmesine gerek görülmedi. Kemik iliği non-heme ve heme fraksiyonlarının ayırımında aynı işlem uygulandı.

Radyoaktivite Ölçümü:

Numunelerdeki radyoaktivite kuyu tipi gama sayıcısı (8) sintilasyon (Nuclear Chicago, model 8725, Single channel Well-type gamma Radiation Analyzer) ile ölçüldü. Her bir numunenin 5'er dakika sayımından sonra 1 dakikalık (CPM) aktiviteleri hesab edildi. Ölçülen aktiviteler standart aktivitenin % si olarak değerlendirildi.

Sonuçlar

Kan, karaciğer, böbrek ve dışkıda herhangi bir işlem yapılmadan doğrudan total aktiviteleri ölçüldü ve standartın % si olarak değerlendirildi. Dalak heme ve non-heme fraksiyonlarında bulunan aktivite yüzdeleri Tablo 1 de gösterilmiştir. Non-heme fraksiyondaki aktivite heme fraksiyondan yüksek bulunmuştur. Kemik iliğinde her iki fraksiyondaki aktivite çok düşük ve değerlendirilemeyecek düzeyde bulunduğundan tabloya alınmadı.

Zaman (saat)	Dalak aktivitesi (%)	
	supernatant (x)	presipitat (xx)
6	0.69 ± 0.15	2.44 ± 0.38
12	0.76 ± 0.15	2.14 ± 0.34
24	1.22 ± 0.44	3.06 ± 0.52

Tablo 1. Intrapertoneal olarak verilen Se-75'in dalakta heme ve non-heme bileşimlerindeki % dağılımı (ortalama ve St. hata)

(x) spt = heme (xx) ppt = non-heme

Zaman (saat)	Kan (%)	Karaciğer (%)	Böbrek (%)	Dışkı (%)
6	2.32 ± 0.16	6.00 ± 0.31	10.64 ± 1.23	4.33 ± 0.85
12	2.48 ± 0.16	6.14 ± 0.60	14.71 ± 2.4	4.43 ± 0.31
24	1.69 ± 0.12	4.67 ± 0.71	13.14 ± 1.57	3.33 ± 0.93

Tablo 2. Intrapertoneal olarak verilen Se-75'in kan, karaciğer böbrek ve dışkıda % dağılımı (Ortalama ve St. hata)

Kan, karaciğer böbrek ve dışkıda bulunan radyoaktivite yüzde-leri de Tablo 2 de gösterilmiştir. Kandaki aktivite % sinde 24. saatta düşme görülmektedir. Karaciğer ,böbrek ve dışkıda da aynı durum göze çarpmaktadır.

Tartışma

Farelere intraperitoneal verilen Selenyumun al yuvarların çeşitli fraksiyonlarındaki dağılımı (Tablo 1) dalakta heme fraksiyonunda nonheme'den daha düşük bulunmuştur. Fakat zamanla heme bileşimindeki aktivitede bir artış gözlenmektedir. Bu artış muhtemelen selenyumun perifer kanda eritrositlere bağlanmasından ileri gelmektedir. Çünkü radyoaktif demirle (Fe-59) yapılan benzeri bir denemede (9) dalaktaki heme bağlanan aktivite 6. saatte en yüksek düzeye erişmektedir. Dalakta 6. saatte başlayarak 24. saate kadar non-heme fraksiyondaki artışta selenyumun perifer kanda eritrositlere bağlan-đını doğrulamaktadır.

Non-heme fraksiyonda yer alan bileşiklerin sayısı hayli yüksektir ve globinde bu fraksiyonda yer almaktadır. Dalakta zamanla non-heme fraksiyondaki aktivite artışı ve kandaği aktivitede zamanla düşüş, selenyumun diğer protein bileşiklerine bağlanması ile izah edilebilir. Mc,Connel ve Cooper (2) perifer kandaki hemoglobin, heme, globin ve plazma proteinlerine bağlanan radyoaktif selenyumu ölçmüş ve selenyumun plazmadan ziyade alyuvarlarda konsantre olduğunu göstermiştir. Selenyum sadece herhangi bir fraksiyona bağlan-mayıp hepsine dağılmaktadır.

Kanda 24. saatte aktivitedeki azalma (Tablo 2) selenyumun plazmadan çekildiğini, dışkı ve idrarla hızlı bir şekilde atıldığını göstermektedir. Bu durum, böbrek aktivitesinin 12. saatta en yüksek düzeyde görülmesi ile de belirlenmektedir. Kemik iliğinde heme ve non-heme fraksiyonlarındaki aktivitenin çok düşük düzeyde oluşu da selenyumun eritropoiesis'den ziyade perifer kanda eritrositlerin yapısına katıldığını kanıtlamaktadır. Mc Connel (2) de köpek ve sıçanda selenyumu kemik iliğinde saptayamadığını belirtmektedir.

Bu ön çalışmanın diğer bazı parametreleri de içine alacak şekilde daha çok deneme hayvanı üzerinde tekrar edilmesi gerekmektedir. Örneđin; radyoaktivitenin verilmesinden sonra daha uzun süre bek-lenerek (8-10 gün) perifer kanda eritrositlerin yapısında yer alan aktivite, dalak ve kemik iliğinde olduğu gibi fraksiyonlara ayrılarak ölçülebilir.

Literatür

- 1- **Buescher, R.C., Bell, M.C., Barry, R.K.** (1961): *The effect of excessive Calcium on Selenium-75 in Swine* J. Anim. Sci. 20 368-372
- 2- **Mc Connel, K.P. and Cooper, B.J.** (1950) *Distribution of Selenium in Serum proteins and Red Blood cells After Subcutaneous injection of Sodium Selenatecontaining Radioselenium* J. Biol. Chem. 183 459-466
- 3- **Kuttler, H.L., Marble, D.W. and Blicae, C.** (1961): *Serum and Tissue residues foollowing selenium injection in sheep* Am. J. Vet. Res., 122 422-428
- 4- **Schwaro, K.** (1960): *Factor 3, selenium and vitamin E* Nutr. Rew., 18 193-197.
- 5- **Wright, P.L. and Bell, M.C.** (1963): *Selenium and Vitamin E Influence Upon the In-vitro Uptake of Se-75 by Ovine Blood Cells*, Proc. Soc. Exp. Biöl, Med., ... 114, 379-382
- 6- **Perla, L. et al** (1968): *In-Vitro Uptake of Selenium-75 by Red Blood Cells From the Immature Ovine During Varying Selenium Intakes*, J. Nutr. 94, 219-226
- 7- **Burk, R.K., Bell, M.C. and Wright, P.L.** (1967): *Blood Selenium Levels and In-vitro Red Blood Cell Uptake of 75 Se in Kwashiorker* Am. J. Nutr. 20 - 723-733
- 8- **Berry, R.H., Bell, M.C. and Wright, P.Z.** (1966): *Influence of Dietary Calcium, Zinc, and Oil Upon the In-vitro Uptake of Zinc-65 by Porcine Blood Cells*, J. Nutr. 88, 284-290
- 9- **Gresham, Z.A., Barnet, M., Göksoy, K. and Vaughan Smith, S.** (1971): *Variations in the Relationships Between Total ⁵⁹Fe Uptake and the Uptakes into Heme and Nonheme Fractions of Spleen and Bone-marrow in Irradiated Mice and Mouse Radiation Chimeras*, Blood, 38, 343-354

Yazı 26.2.1981 günü alınmıştır.