

EMBRİYONAL DÖNEMDE UYGULANAN GAMA RADYASYONUN BROYLERLERDE ANTIOKSİDATİF METABOLİZMA ÜZERİNE ETKİSİ*

ULVİ REHA FİDANCI**
HATİCE FİDANCI***

TEVHİDE SEL**

SERTAÇ ÖZDEMİR***
EMİNE ÖZDEMİR****

The effect of gamma rays incubation during the embrional period
on the antioxidative metabolism in broilers

Summary : *The damage caused by free radicals is inhibited by the antioxidative defence systems, including the action of free radical scavengers, such as alfa-tocopherol, Beta-carotene, ascorbic acid and enzymatic mechanisms, such as glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase, phospholipase A₂.*

The aim of the study was to determine the changes of the antioxidative metabolism in the broilers with the range 0-2 Gy gamma rays incubation during the embrional period.

In the results, broilers were slughtered at the 43 th day. Following slaughter blood were collected and analysed for the Beta-carotene, ascorbic acid and glutathione peroxidase. A significant increase was observed in the ascorbic acid ($p<0.01$) levels in the 2 Gy doses group. Beta-carotene ($p<0.05$) levels also increased in the 1.5 Gy and 2 Gy doses groups and the glutathione peroxidase activity decreased in the same groups ($p<0.01$).

Key words: gamma rays, chicken, embryo, antioxidative metabolism

Özet : *Organizmada oluşan serbest radikallerin, antioksidatif savunma sistemleri tarafından hızla etkisiz hale getirilmeleri gereklidir. Serbest radikallerin zararlı etkilerinin önlenmesinde alfa-tokoferol, beta-karoten, askorbik asit gibi moleküler ve glutasyon peroksidaz, süperoksid dismutaz, katalaz, fosfolipaz A gibi enzimatik antioksidanlar önemli rol oynar.*

Bu çalışmada kuluçkalamadan önce gama radyasyon uygulanmayan ve 0.5, 1, 1.5 ile 2 Gy dozda gama radyasyon uygulanan embriyolu yumurtalardan çıkan broylerlerde, antioksidatif metabolizmadaki değişikliklerin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Broylerler 43. gün kesime gönderilmiş ve kesim sırasında alınan kan serumlarında moleküler (Beta-karoten ile askorbik asit) ve enzimatik (glutasyon peroksidaz) antioksidanların düzeyleri ölçülmüştür.

Sonuç olarak 2 Gy dozda gama radyasyon uygulanan grupta Beta-karoten düzeyinde artış ($p<0.05$), 1.5 ve 2 Gy dozda gama radyasyon uygulanan gruplarda askorbik asit düzeylerinde artış ($p<0.01$) ve glutasyon peroksidaz aktivitesinde azalma ($p<0.05$) gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : *gamma ışınları, tavuk, embriyo, antioksidatif metabolizma.*

Giriş

Eksojen yada endojen nedenlerle oluşan serbest radikaller, paylaşılmamış elektronlarından dolayı protein, karbonhidrat, nükleik asit ve lipid gibi çeşitli biyolojik makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar (7). Serbest radikallerin en önemli

etkisi lipidler üzerine yaptığı etkidir ki, bu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır (15,22). Serbest radikallerin olumsuz etkilerinin önlenmesi amacıyla organizma antioksidatif savunma sistemlerini geliştirmiştir. α -tokoferol (4,21), β -karoten (3,12), askorbik asit (5,19) gibi moleküler ve glutasyon peroksidaz (23),

*Bu araştırmanın materyali TAEK-F 3.1.1.4 nolu projeden sağlanmıştır.

**A.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 06110-Ankara

***TAEK Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü, 06852 Lalahan-Ankara

****TKB Hayvancılık Araştırma Enstitüsü, 06852 Lalahan-Ankara

süperoksit dismutaz (8,14), katalaz (17), fosfolipaz A₂ (18) gibi enzimatik antioksidanlar önemli rol oynamaktadır. Melatonin, üratlar, stein, metiyonin, glutasyon, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, albumin, bilirubin'in de son yıllarda enzimatik olmayan antioksidanlar olarak kabul görmektedir (1).

Radyasyon eksojen bir serbest radikal kaynağı olup, bunun etkisi ile organizmada oluşan primer radikaller biyolojik makromoleküllerde, diğer kaynaklardan gelen radikallerle aynı hasarı oluşturmaktadır (1). Ancak gama radyasyonun 2 Gy ve altındaki dozlarının, tavuk yumurtalarında embriyoya zarar vermediği bildirilmektedir (25). Embriyonal dönemdeki ışınlanmanın antioksidatif metabolizma üzerinde oluşturduğu değişikliklere ilişkin çalışmalar mevcut olmayıp, konu tam olarak aydınlatılamamıştır.

Gerçekleştirilen bu çalışmada, kuluçkalamadan önce gama radyasyon uygulanmayan ve 0.5, 1, 1.5 ile 2 Gy dozda gama radyasyon uygulanan embriyolu yumurtalardan çıkan broylerlerde, antioksidatif metabolizmadaki değişikliklerin gösterilmesi amaçlanmıştır

Materyal ve Metot

Çalışmada özel bir işletmeden temin edilen Avian Farm ırkı etçi damızlık yumurtaları kullanılmıştır. Toplam 100 yumurta 5 gruba ayrılmış, gama radyasyon uygulanmayan kontrol grubu dışındaki 4 gruba sırası ile 0.5, 1, 1.5 ve 2 Gy dozlarında gama ışını verilmiştir. Embriyolu yumurtaların ışınlanmasında Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsünde (TAEK-LHSNAE) bulunan Cs¹³⁷ kaynağı kullanılmıştır.

İşinlanmamış (Kontrol) ve işinlanmış embriyolu yumurtalar aynı anda, Tarım ve Köyşeri Bakanlığı, Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde (TKB-LHAE) bulunan kuluçka makinalarına yerleştirilmiş ve 18. günde döllülük kontrolü yapılmıştır.

21. gün kuluçkadan çıkan civcivler, TKB-LHAE'ne ait kümeslerde önceden hazırlanan özel bölmelere yerleştirilmiş ve altı hafta süreyle besiyeye alınmışlardır. Bu süre içerisinde ilk 10 gün süreyle civciv büyütme, daha sonra da piliç geliştirme yemi kullanılmıştır.

Her gruptan 15 broyler 43. günde kesilerek kan örnekleri toplanmıştır. Elde edilen kan serumlarında β-karoten düzeyleri Suzuki ve Katoh (20), askorbik asit düzeyleri ise Kway (13) tarafından ölçülmüştür. Glutasyon peroksidaz (E.C. 1.11.1.9.; GSH-Px) aktivitesi ölçümü ise Paglia ve Valentine (16)'in bildirdiği

şekilde fotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçların değerlendirilme-sinde varyans analizi ve Duncan testinden yararlanılmıştır (6).

Bulgular

Kuluçkalamadan önce gama radyasyon uygulanmayan ve 0.5, 1, 1.5 ile 2 Gy dozda gama radyasyon uygulanan embriyolu yumurtalardan çıkan broylerlerin yem tüketimi, 43. günde canlı ağırlıkları ve yemin ete dönüşüm oranları Tablo 1'de; serum örneklerinde ölçülen β-karoten ve askorbik asit düzeyleri ile GSH-Px aktiviteleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Broilerlerin 43. günde yem tüketimi, canlı ağırlıkları ve yemden yararlanma kabiliyetleri.

Table 1. Feed consumption, feed efficiency and body weight of broilers at 43. day.

	n	Yem Tüketimi	Canlı Ağırlık	Yemin Ete Dönüşümü
Kontrol	15	3736.8 g	2227.0 g	1.67
0.5 Gy	15	3621.1 g	2228.0 g	1.62
1.0 Gy	15	3355.4 g	2228.0 g	1.50
1.5 Gy	15	3813.0 g	2129.0 g	1.79
2.0 Gy	15	3430.1 g	2041.1 g	1.68

Tablo 2. Broiler serum örneklerinde β-karoten ve askorbik asit düzeyleri ile GSH-Px aktiviteleri

Table 2. The GSH-Px activity, β-carotene and ascorbic acid levels in the serum samples of broilers.

	n	Beta-Karoten (µg/dl)	Askorbik asit (mg/dl)	GSH-Px*
Kontrol	15	21.34 ± 1.60	1.90 ± 0.06	51.05 ± 3.39
0.5 Gy	15	18.36 ± 2.22	1.85 ± 0.09	52.16 ± 3.03
1.0 Gy	15	26.32 ± 2.70	1.65 ± 0.05	51.90 ± 3.90
1.5 Gy	15	20.17 ± 2.01	2.37 ± 0.07	44.90 ± 2.79
2.0 Gy	15	27.20 ± 1.63	2.31 ± 0.07	40.86 ± 2.09

*Nmol NADPH + H⁺/dakika/mg protein

Gruplar arasında 1 Gy dozda gama radyasyon uygulanan grup en düşük yem tüketimi ile 43. günde 2228.0 g'lık canlı ağırlığa ulaşmış ve yemin ete dönüşüm oranı 1.5 olmuştur (Tablo 1).

Scrum β-karoten düzeyleri yönünden 0.5 Gy dozla işinlanan grubun 18.36 µg/dl ile en düşük, 2.0 Gy dozla işinlanan grubun ise 27.20 µg/dl ile en yüksek değere ulaştığı görülmektedir (Tablo 2). Bu iki grup arasındaki fark p≤0.01 düzeyinde önemlidir. 2.0 Gy dozla işinlanan gruptan elde edilen sonuç, 1.5 Gy dozla işinlanan gruptan elde edilen değerden ise p≤0.05 önemli düzeyde daha yüksektir. Kontrol grubu ile değişik dozlarda gama ışınlamaya tabi tutulan diğer gruplar arasında istatistiksel fark gözlenmemiştir.

En yüksek serum askorbik asit düzeyi 2.37 mg/dl ve 2.31 mg/dl ile 1.5 Gy ve 2.0 Gy dozla işinlanan gruplarda ölçülmüştür (Tablo 2). Bu grupların askorbik asit düzeyleri hem kontrol grubundan hem de 0.5 ve 1.0 Gy dozla işinlanan

gruplardan $p \leq 0.01$ düzeyinde daha yüksek bulunmuştur. 1.0 Gy dozla ışınlanan grupta ise alınan değer kontrol grubundan $p \leq 0.05$ düzeyinde daha düşüktür.

2 Gy dozla ışınlanan grupta GSH-Px aktivitesi 40.86 nMol NADPH + H⁺ /dakika/mg protein düzeyinde ölçülmüştür (Tablo 2). Bu değer 1.5 Gy dozla ışınlanan gruptan sağlanan sonuçtan istatistiksel olarak farklı değildir. Ancak, diğer gruplardan $p \leq 0.05$ düzeyinde daha düşüktür.

Tartışma ve Sonuç

Düşük dozda gama ışınlarının döllu kanatlı yumurtalarında kuluçka verimini artırdığı bildirilmektedir (10,25). Total vücut gama ışınlanmasından sonra bıldırcın ve tavuklarda ölüm oranları, yumurta verimi ve ağırlığı üzerinde durulmuştur (2).

Khamidov ve ark. (11) embriyonal dönemde uygulanan düşük dozdaki gama radyasyonun, tavuk karaciğer hücre membran enzimlerini stimüle ettiğini bildirmişlerdir. Hücre kültüründe gama radyasyonla provoke edilen serbest radikal oluşumu, ortama ilave edilen askorbik asit tarafından azaltılabilmektedir (24). Ancak, embriyonal dönemde yada total vücut ışınlanmasından sonra kanatlılarda antioksidatif metabolizmada oluşan değişikliklere ilişkin bilgiler mevcut değildir.

Bu çalışmada 2.0 Gy dozundaki ışınlanmanın β -karoten ($p \leq 0.05$) ve 1.5 Gy ile 2 Gy dozundaki ışınlanmaların askorbik asit ($p \leq 0.01$) düzeylerinde artışa, 1.5 Gy ve 2 Gy dozundaki ışınlanmanın glutasyon peroksidaz aktivitesinde ise azalmaya ($p \leq 0.05$) nedn olduğu gözlenmiştir (Tablo 1).

Serum β -karotin ve askorbik asit düzeyleri ile besleme arasında yakın ilişki vardır (9). Bu nedenle β -karotin yönünden kontrol grubu ile diğer gruplar arasında uygulanan gama radyasyonun dozuna bağlı değişen değerler elde edilememiştir (Tablo 1). Bulunan istatistiksel önemlilikteki farklar anlamlı değildir. Aynı yaklaşım askorbik asit için de geçerlidir. Ayrıca, kesim gününde crişilen canlı vücut ağırlıkları yönünden incelendiğinde, gruplar arasında önemli istatistiksel farklılığın bulunmaması da bunu kanıtlar niteliktedir (Tablo 2).

Organizmanın enzimatik antioksidatif savunma sistemlerinden olan GSH-Px aktivitesinde, 1.5 Gy ve 2.0 Gy dozla gama ışınlanmadan sonra gözlenen düşüşün ise embriyonal dönemin başlangıcında, gama radyasyonun DNA üzerindeki etkisine bağlı olarak geliştiği ve bunun kuluçkalamadan sonra enzimlerin sentez aşamasında kendisini gösterdiği kanısı uyanmaktadır.

Gama radyasyonun kanatlılarda ve memelilerde embriyonal ve postnatal yaşam dönemlerinde antioksidatif savunma sistemleri üzerinde etkileri ve hastalıklarda olan ilişkileri yapılacak araştırmalarla ortaya konmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Akkuş, I. (1995) Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
2. Baumgartner, J. (1985) The effect of total body gamma-irradiation on mortality, egg production and egg weight of Japanese quails. *Int.J. Rad. B.*, 47, 591-597.
3. Burton, G.W. (1989) Antioxidant action of carotenoids. *J. Nutr.*, 119, 109-111.
4. Burton, G.W., Ingold, K.U. (1989) Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 570, 7-23.
5. Chan, A.C. (1993) Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 71, 725-31.
6. Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F. (1983) İstatistik Metodları. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yay. No. 861, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.
7. Frei, B. (1994) Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *Am. J. Med.*, 97 (Suppl 3A) 5S-12S.
8. Fridovich, I. (1975) Superoxide dismutases. *Ann. R. Biochem.*, 44, 147-159.
9. Friedrich, W. (1987) *Handbuch der Vitamine*. Urban&Schwarzenberg, München.
10. Jilo, A., Lohle, K. (1991) Investigations on the effect of gamma Co 66 irradiation of semen and hatching eggs on egg hatchability in fowls of different breeds and genotypes. *Monatsh. Vet.*, 46, 622-625.
11. Khamidov, D.K., Islamov, T.M., Nishanbaev, K.H., Shpolianskii, I.V., Mirsalikhova, N.M. (1984) Effect of small doses of gamma radiation on the activity of marker enzymes in the plasma membranes of chick embryo liver. *Radiobiol.*, 234, 350-352.
12. Krinsky, N.I. (1989) Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biol. Med.*, 7, 617-635.
13. Kway, A. (1987) A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin. Chim. A.*, 86, 153-157.
14. Marklund, S.L. (1984) Mammalian superoxide dismutases. Alınmıştır: Bors, W., Saran, M., Tait, M. (Ed.) *Oxygen radicals in chemistry and biology*. Verlag de Gruyter, Berlin.
15. Niki, E. (1987) Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. L.*, 44, 227-253.
16. Paglia, D.E., Valentine, W.N. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J.Lab. Cl. Med.*, 70, 158-169.
17. Percy, M.E. (1984) Catalase: an old enzyme with a new role? *Can. J. Biochem. Cell. Biol.*, 62, 1006-1014.
18. Sevanian, A., Kim, E. (1985) Phospholipase A2 dependent release of fatty acids from peroxidized membranes. *J. Free-Radical Biol. Med.*, 1, 263, 271.
19. Sies, H., Stahl, W., Sundquist, A.R. (1992) Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, Beta-carotene and other carotenoids. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 669, 7-21.
20. Suzuki, J.I., Katoh, N.A. (1990) A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52, 1281-1283.
21. Tappel, A.L. (1962) Vitamin E as the biological lipid antioxidant. *Vitam. Horm.*, 20, 493-510.
22. Tappel, A.L. (1972) Free radical peroxidation of lipids. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 203: 12-28.

23. **Wendel, A.** (1980) Gluthation peroxidase. Alınmıştır: Jacoby, F.B. (Ed.) Enzymatic Basis of Detoxication. Academic Press, New York.
24. **Yoshimura, T., Matsuno, K., Miyazaki, T., Suzuki, K., Watanabe, M.** (1993) Electron spin resonance studies of free radicals in gamma-irradiated golden
25. hamster embryo cells: radical formation at 77 and 295 K, and radioprotective effects of vitamin C at 295 K. *Radiat. Res.*, 136, 361-365.
26. **Zakaria, A.H.** (1991) Effect of row doses of gamma irradiation prior to egg incubation ant hatchabililty and body weight of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.*, 32, 103-107.