



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2017; 31 (3): 227 - 230
http://www.fusabil.org

Gonca OZAN
Mehmet Ali KISAÇAM
Penbe Sema TEMİZER OZAN

Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Sıcaklık Stresi Altındaki Bildircinlarda Yemlere Yumurta Kabuğu ve Oleuropein İlavesinin Böbrek Arginazı Üzerine Etkisi

Zeytin sanayi atıkları genellikle kanatlı beslenmesinde kullanılan önemli fenolik yapıdaki yem katkı maddeleridir. Oleuropein zeytin yaprağı ve meyvelerinde doğal olarak bulunup, antimikrobiyal, antiparazitik, antihelmintik, antioksidan ve sindirime yardımcı etkileri olan bir bileşiktir. Sıcak stresi kanatlılarda ölümlerin artışı ile ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışma: sıcaklık stresine maruz bırakılmış bildircinlarda, yumurta kabuğu ve oleuropein katkı maddelerinin, kanatlıların böbrek arginaz aktivite düzeylerine olan etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 128 adet 15 günlük bildircin rastgele 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar; kontrol, yumurta kabuğu (ZYK), yumurta kabuğu+oleuropein (ZYK+OLE) ve oleuropein (OLE) olarak isimlendirilmiştir. Çalışma sonucunda arginaz aktivite düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmada ZYK+OLE ve ZYK grupları kontrol grubu ile kıyaslandığında arginaz aktivite düzeylerinde anlamlı bir azalma ($P<0.01$) saptanırken, kontrol grubu ile OLE grubu arasında yapılan karşılaştırmada önemli bir fark bulunamamıştır. Ayrıca ZYK+OLE, ZYK ve OLE gruplarının kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarında da istatistiki açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır. Sonuç olarak, yem katkı maddelerinin böbrek arginaz seviyelerini düşürerek sıcak stresi üzerine olumlu etki yapabileceği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Japon bildircini, arginaz, böbrek, üre

Effect of Dietary Egg Shell and Oleuropein on Kidney Arginase Activity in Japanese Quails Under Heat Stress

Olive industry wastes are the feed additives which are in the important phenolic structure are generally used in poultry nutrition. The oleuropein in the phenolic structure is found naturally in olive leaf and fruit and is a compound with antimicrobial, antiparasitic, antihelminthic, antioxidant and digestive auxiliary effects. Heat stress causes serious economic loss by increasing deaths in poultry. This study was undertaken to investigate the effects of egg shell and oleuropein feed additives on renal ARGINASE activity levels in heat stressed quails. In the study, 128, 15-day old quails were randomly divided into 4 groups. Groups were named as control, eggshell (ZYK), egg shell + oleuropein (ZYK+OLE) and oleuropein (OLE). As a result, arginase activity levels were found to be statistically significant. A significant decrease in arginase activity ($P<0.01$) was found in the study when compared to the control group of ZYK+OLE and ZYK groups, but no significant difference was found between the control group and the OLE group. Moreover, there was no statistically significant difference in the comparisons between ZYK+OLE, ZYK and OLE groups. As a consequence, it was observed that the feed additives had a positive effect on the heat stress by lowering the renal arginase levels.

Key Words: Japanese quail, arginase, kidney, urea

Geliş Tarihi : 19.09.2017
Kabul Tarihi : 24.10.2017

Giriş

Zeytin ağacı önemli biyolojik özelliklere sahip çok yıllık bir bitkidir. Ülkemiz 1.75 milyon ton zeytin üretimi ile dünya zeytin üretiminde %8.8'lik paya sahiptir (1, 2). Zeytin hasadında tane ile birlikte dalından koparılan yapraklar, sofralık zeytin üretiminden arta kalan ezikler, çürük zeytin taneleri gibi standart dışı kalmış zeytinler, yağ sanayi artıklarından zeytin posası (prina) ve kara suyu gibi atıklar mevcuttur. Bu atıklar genellikle kanatlı beslenmesinde önemli fenolik yapıdaki yem katkı maddeleridir (1, 3). Fenolik bileşiklerin en önemlilerinden biri ise oleuropeindir. Oleuropein zeytin yaprağı ve meyvelerinde doğal olarak bulunup zeytin meyvesine hissedilen acılığı veren aromatik fenolik bir bileşiktir (2, 4). Aromatik bitkilerin; doğal olmaları, birçok aktif bileşik içermeleri, lezzet, aroma, antimikrobiyal, antiparazitik, antihelmintik, antioksidan ve sindirime yardımcı etkilerinin varlığı ve ekonomik olmaları onların yüzyıllardır tedaviye yardımcı olarak kullanılmalarına neden olmaktadır (1, 4).

Japon bildircinleri (*Coturnix coturnix japonica*) 17 günlük kuluçka süresine sahip, 5-6 haftada cinsel olgunluğa ulaşan, kısa sürede canlı ağırlık kazanan, hastalıklara stres faktörlerine dayanıklılık gösteren, yüksek adaptasyon yeteneğine sahip, et ve yumurta verimi yüksek, yetiştiriciliği de yaygın olarak yapılan popüler bir kanatlı türüdür.

Yazışma Adresi Correspondence

Penbe Sema TEMİZER OZAN
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

stozan@firat.edu.tr

Zira insanların gereksinim duydukları hayvansal ürünlerin bol miktarda, yüksek kalitede, uygun zamanda mümkün olduğu kadar ucuza sağlanması önemlidir. Hayvansal proteinlerin temin edilmesinde bildircin yetiştiriciliği önemli rol oynamakta ve bildircinlar hızlı, kaliteli, ucuz hayvansal protein kaynağı olarak tüketime sunulmaktadır. Son yıllarda kanatlı yetiştiriciliğinde kanatlıların daha kısa sürede kesim ağırlığına ulaşması, yem maliyetlerinin düşürülmesi önemli bir konu haline gelmiş ve çeşitli yem katkıları kanatlı yemlerine katılmaya başlanmıştır (5-7).

Canlılarda başlıca azotlu son ürünler amonyak, üre ve ürik asittir. Memeliler azotu üreye dönüştürerek vücutlarından uzaklaştırırken, kanatlılar normal besleme koşullarında azotun önemli bir bölümünü ksantin dehidrogenaz enzimi aktivitesiyle ürik asit oluşturarak vücutlarından uzaklaştırır. Bununla birlikte kanatlılarda azotun eliminasyonunda arginaz enzimi aktivitesiyle üre oluşumunda rol almaktadır. Özellikle memelilerde proteinlerin yapı taşı olan aminoasitlerin yıkımı sonucu ortaya çıkan ve organizma için toksik olan amonyak karaciğerde Krebs Henseleit üre döngüsü ile detoksifiye edilerek ürenin biyosentezi gerçekleşmektedir (4, 8). Arginaz (L-Argininamidohidrolaz; EC 3.5.3.1) üre siklusunun en son basamağını katalize ederek L-arginini, üre ve ornitine hidrolize eder. Arginazın iki izoenzimi mevcuttur. Arginaz I, sitozolik form olup karaciğerde bulunur ve amonyağın detoksifikasyonundan sorumludur. Arginaz II, mitokondrial formdur ve üre döngüsü bulunmayan karaciğer dışındaki dokularda bulunmaktadır (9). Arginaz II; proteinlerin yapısına katılan prolin ve hidroksiprolin sentezinin prokürsörü olan ornitin sentezinde (10, 11), poliaminlerin biyosentezinde; immün cevap oluşumunda, ayrıca tümör biyolojisinde rol oynamaktadır (12-14). Karaciğerde üre döngüsünün tüm enzimleri ve maksimum düzeyde de arginaz bulunmaktadır. Böbrek gibi tam üre döngüsü bulunmayan dokularda da arginaza rastlanmaktadır. Üre böbrek yolu ile atılırken, böbrek arginazının arginini hidrolize etmesi ile oluşan ornitin; poliaminlerin, glutamatin (γ -amino bütirik asitin (GABA) prokürsürüdür), prolinin ve hidroksiprolinin sentezinde kullanır. Prolin ve GABA hücre sinyalizasyonunda, prolin ise kollajen sentezi için gereklidir. Putresin, spermin ve spermidin olarak bilinen poliaminler ise hücre çoğalmasında, iyon kanalları ve nörotransmitter reseptörlerin modülatörü olarak görev yapmaktadır (15, 16).

Kanatlılarda görülen sıcak stresi, ani sıcaklık değişimleri ve/veya yüksek çevre sıcaklıkları ile karakterize olup tüm canlılarda hücresel boyutlara da varabilen bir cevaba yol açmakta ve ölüme kadar götürebilmektedir. Sıcaklık stresinde; immün sistemin zayıflaması, dokulardaki antioksidan mekanizmaların azalması ve dolayısı ile reaktif oksijen türlerinin artışı hayvanlarda direnci azaltmakta ve ilerleyen zamanla

birlikte ölümlerin artışı ile ciddi ekonomik kayıplar oluşmaktadır (17).

Bu çalışma, sıcaklık stresi altındaki bildircinlara yumurta kabuğu ve oleuropein ilavesinin böbrek arginaz aktivitesi üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

128 adet 15 günlük bildircin rastgele 4 gruba ayrılmıştır. Her grup 32 adet bildircin ibarettir. Tüm gruplara su adlibitum olarak verilmiştir, 24 saat aydınlatma programı uygulanmıştır. Çalışma için Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2017/80 protokol numarasıyla etik kurul izni alınmıştır.

Hayvanların yemlenmesinde kullanılan yem NRC (8) standartlarına uygun olarak hazırlanmış bildircin büyütme yemi (%4 ham protein, 2900 kcal/kg metabolik enerji) bölgedeki üreticilerden temin edilmiştir. Hayvanlar 8 günlük yaşta satın alındıktan sonra 7 gün süresince alıştırmaya yapılmış ve 15 günlük iken tartılarak deneme gruplarına ayrılmıştır. Gruplar aldıkları yem katkı maddesine göre; kontrol, yumurta kabuğu, yumurta kabuğu+oleuropein ve oleuropein grubu (OLE grup) olarak isimlendirilmiştir.

Kontrol grubu; mısır-soya esasına dayalı temel diyet ile beslenmiş, Yumurta Kabuğu Grubu(ZYK): Temel diyete %2 zarlı yumurta kabuğu ilave edilerek beslenmiş, Zarlı yumurta kabuğu+Oleuropein Grubu (ZYK+OLE grup): Temel diyete %2 Zarlı Yumurta Kabuğu+200 ppm dozunda Oleuropein ilavesi ile beslenmiş, Oleuropein Grup: Temel diyete 200ppm dozunda Oleuropein ilavesi ile beslenmiştir.

Sıcak stresi kümes ısısı 37-38 °C olacak şekilde her sabah saat 09.00 ile 17.00 saatleri arasında günlük 8 saat süreyle uygulanmıştır. Akşam 17.00-09.00 saatleri arasında ise 18-22 °C termonötral koşullar sağlanmıştır. 29 günlük deney periyodundan sonra hayvanlar boyun uçurtma tekniği ile sakrifiye edilmiş ve böbrek dokuları alınmıştır. Alınan dokularda arginaz aktivitesi spektrofotometrik olarak saptanmıştır (18). Protein miktarları ise Lowry Metodu ile ölçülmüştür (19).

Verilerin değerlendirilmesinde Windows uyumlu SPSS paket programı uygulanmıştır. P değerleri <0.05 olanlar istatistik olarak anlamlı kabul edilmiştir (20).

Bulgular

Çalışmada ZYK+OLE ve ZYK grupları kontrol grubu ile kıyaslandığında arginaz aktivite düzeylerinde anlamlı bir azalma ($P<0.01$) saptanırken, kontrol grubu ile OLE grubu arasında yapılan karşılaştırmada önemli bir fark bulunamamıştır. Ayrıca ZYK+OLE, ZYK ve OLE gruplarının kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarında da istatistik açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır (Tablo1).

Tablo 1. Sıcaklık stresi altındaki bildırıncılarda yemlere yumurta kabuğu ve oleuropein ilavesinin böbrek arginazına etkisi

Parametre	Kontrol	Yumurta Kabuğu	Oleuropein	Yumurta Kabuğu + Oleuropein	P
Arginaz (Ünite)	188.75±34.44 ^a	32.04±6.91 ^b	114.60±27.60 ^{a,b}	82.74±22.05 ^b	*

* = P < 0.01

Aynı satırda farklı işaret taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (* = P < 0.05)

Ünite= 1 saatte, 37 °C'de, L-argininden 1 µmol üre oluşturan enzim aktivitesinin mg protein cinsinden ifadesi olup, µmol üre/mg protein/saat olarak tanımlanmıştır.

Tartışma

Sıcaklık stresi artan endüstrileşme ve çevresel faktörlerden dolayı kanatlı sektörünün en önemli sorunlarından birisidir (21). Sıcaklık stresi serbest radikallerde artışa neden olarak hücre membran lipitlerinin peroksidasyonunu başlatmakta ve stres hormonlarının salınımı ile karbonhidrat, lipit metabolizması ile protein katabolizmasını başlatmaktadır (22). Yüksek sıcaklıklarda broiler ırkı tavuklar homoterapiyi sağlamak için daha az yem tüketirler (23). Bu nedenle yüksek sıcaklıklara maruz bırakılan kanatlılarda diyet formülasyonunun değiştirilmesi gerektiği yönünde bir düşünce vardır (21). Bu değişiklikler yemlerin içeriklerinin değiştirilmesi yada yem katkılarının eklenmesi ile gerçekleştirilebilmektedir. Sıcaklık stresi gelişme aşamasında protein ve amino asit metabolizmasında bazı değişiklikler meydana gelir. Protein yıkımı hızlı bir şekilde artmaktadır (24). Çalışmada elde edilen sonuçlarda yüksek sıcaklığa maruz bırakılan kontrol grubunda arginaz seviyeleri yüksek bulunmuş bunun literatürle uyumlu olarak protein katabolizması ile ilgili olduğu düşünülmüş, ZYK ve ZYK+OLE gruplarında ise protein katabolizmasının yavaşladığı gözlemlenmiştir. Sarıca ve Özdemir (25)

diyete oleuropein ve vitamin E eklenmesinin sıcaklık stresinin negatif etkilerinin ortadan kaldırılmasında etkili olduğu sonucunu ortaya koymuştur.

Reis ve ark. (26) bildırıncılar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, protein kısıtlı diyetle beslenen bildırıncılarda ürik asit miktarı ve ksantin oksidaz düzeyinin azaldığını, üre miktarının azalmasına rağmen arginaz düzeyinin değişmediğini saptamışlardır. Kanatlılarda arginazın azotlu son ürünlerin atılımına %5.2 oranında katıldığı bilirse de kanatlılarda bulunan arginazın öncelikli görevi azotlu son ürünlerin oluşturulması değildir. Kanatlılar bu özelliklerinden dolayı esansiyel bir aminoasit olan arjinine memelilerden daha fazla ihtiyaç duyarlar. Artmış böbrek arginaz düzeyi kanatlılarda arjinin düzeyini düşürerek arjinin eksikliği sonucu üreme ve gelişme fonksiyonlarında azalmaya sebep olabilmektedir.

Bu sonuçlar, yem katkı maddelerinin böbrek arginaz seviyelerini düşürerek sıcak stresi üzerine olumlu etki yapabileceğini göstermiştir. Konu ile ilgili yeterli araştırmanın bulunmayışı tartışma zeminini daraltırken yeni çalışmaların yapılmasını gerekliliğini ortaya koymuştur.

References

- Özdemir A. Bildırcın Karma Yemlerine Zeytin Yaprağı Özüü Katılmasının Verim Performansı ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
- Atik Z, Ceylan N. Yumurta kabuk kalitesine mineral maddelerin etkisi. Tavukçuluk Araştırma Dergisi 2009; 6: 50-57.
- Malik NSA, Bradford JM. Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in "Arbequina" olives. Sci Hort 2006; 110: 274-278.
- Balisteri WF, Rej R. Liver function. In: Burtis A, Ashwood ER. (Editors). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd Edition, Philadelphia: WB Saunders Company, 1994; 1449-1509.
- Poyraz Ö, Akıncı Z, Erdoğan M, et al. Bildırıncılarda cinsel olgunluk mevsiminin bazı yumurta kalite özelliklerine etkisi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi 2002; 42: 45-58.
- Çamdeviren H, Taşdelen B. Beşinci hafta canlı ağırlığı yönünde seleksiyon yapılmış japon bildırcını hatında büyümenin tek ve çok aşamalı analizi. Türk J Vet Anim Sci 2002; 26: 421-427.
- Balcıoğlu MS, Yolcu Hİ, et al. Japon bildırıncılarında canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışına ait genetik parametre tahminleri. Akdeniz Üniv Zir Fak Dergisi 2005; 18: 35-39.
- Rodvell VW. Harper'ın Biyokimyası. Dikmen N (Çeviren). İstanbul: Nobel, 2004.
- Özçelik M, Erişir M, Güler O, et al. Deneysel olarak oluşturulan kontrast madde nefropatisinde arginaz, kreatinin ve üre üzerine kalpain inhibisyonunun etkisi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2014; 11: 19-22.
- Jenkinson CP, Grigor MR. Rat mammary arginase: Isolation and characterization. Biochem Med And Met Biol 1994; 51: 156-165.
- Kaysen GA, Strecker HJ. Purification and properties of arginase of rat kidney. Biochem J 1973; 133: 779-788.
- Efron DT, Barbul A. Arginine and nutrition in renal disease. J Nutr 1999; 9: 142-144.
- Konarska L, Tomaszewski L, Rolczyk U. Studies on L-Arginase in developing rat small intestine, brain and kidney. Biochem Med Metab Biol 1986; 35: 170-178.
- Wu G, Morris S. Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. Biochem J 1998; 336: 1-17.

15. Heby O, Emanuelsson H. Role of the polyamines in germcell differentiation and in early embryonic development. *Med Biol* 1981; 59: 417-422.
16. Castillo L, deRojas TC, Chapman TE, et al. Splanchnic metabolism of dietary arginine in relation to nitricoxide synthesis in normal adult man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 193-197.
17. Erişir M, Erişir Z. Changes in some biochemical blood parameters of quails (*Coturnix coturnix japonica*) with increasing stocking density. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26: 491-496.
18. Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem* 1971; 39: 412-417.
19. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL Randall RJ. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1971; 193: 265-275.
20. Çimen M. Fen ve Sağlık Bilimleri Alanlarında SPSS Uygulamalı Veri Analizi. 1. Baskı İstanbul: Palme, 2015.
21. Ajakaiye JJ, Ayo JO, Ojo SA. Effects of heat stress on some blood parameters and egg production of Shika Brown layer chickens transported by road. *Biol Res* 2010; 43: 183-189.
22. Imik H, Kaynar O, Ozkanlar S, et al. Effects of vitamin C and α -lipoid acid dietary supplementations on metabolic adaptation of broilers to heat stress. *Rev Méd Vét* 2013; 164: 52-59.
23. Yahav S. Relative humidity at moderate ambient temperatures: its effect on male broiler chickens and turkeys. *Br Poult Sci* 2000; 41: 94-100.
24. Temim S, Chagneau AM, Guillaumin S, et al. Does excess dietary protein improve growth performance and carcass characteristics in heat-exposed chickens? *Poult Sci* 2000; 79: 312-317.
25. Sarica S, Ozdemir D. The effects of dietary oleuropein and organic selenium supplementation in heat-stressed quails on tonic immobility duration and fluctuating asymmetry. *Ital J Anim Sci* 2017; 1-8.
26. Reis RS, Barreto SLT, Abjaude WS et al. Relationship of arginine with lysine in diets for laying Japanese quails. *R Bras Zootec* 2012; 41: 106-110.