



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2018; 32 (1): 13 - 15  
http://www.fusabil.org

### Elazığ Yöresinde Bulunan Koyun Irklarının Cinsiyete Göre Eritrosit Arginaz Aktiviteleri ve Karşılaştırılması \*

Mustafa Bahadır KAYMAZ <sup>1, a</sup>  
Gizem ASLAN <sup>2, b</sup>  
Ahmet BERK <sup>1, c</sup>  
Necmi ÖZDEMİR <sup>2, d</sup>

<sup>1</sup> İnönü Üniversitesi,  
Eczacılık Fakültesi,  
Farmakoloji Anabilim Dalı,  
Malatya, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0002-0033-898x

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0002-9197-7655

<sup>c</sup> ORCID: 0000-0002-0828-6520

<sup>d</sup> ORCID: 0000-0002-5151-4197

Bu çalışmada Elazığ ili içerisinde Akkaraman, Morkaraman ve İvesi koyun ırklarının erkek ve dişi cinslerinin eritrosit arginaz aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Koyun ırklarından alınan kanların eritrosit arginaz aktivitesi tiyosemikarbazid-diasetilmonoksim üre (TDMU) metodu ile ölçülmüştür. Akkaraman ırkından aynı bakım ve şartlarda yaşayan 10 hayvanın kan örneği, Morkaraman ve İvesi ırklarından ise 13 hayvanın kan örneğiyle çalışılmıştır. Çalışma sonucu tüm ırklar için dişi ve erkek cinsiyetler arasında eritrosit arginaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Arginaz, eritrosit, Akkaraman, Morkaraman, İvesi

#### Erythrocyte Arginase Activities and Comparison by Gender of Sheep Breeds in Elazığ Region

In this study the erythrocyte arginase activity of male and female strains of Akkaraman, Morkaraman and Awassi breed sheep located in Elazığ were compared. The erythrocyte arginase activity of blood samples obtained from the sheep strains was measured by the thiosemicarbazide-diacetylmonoxime urea (TDMU) method. The blood samples obtained randomly from of 10 Akkaraman, 13 Morkaraman and 13 Awassi strain animals were used in this study. The results demonstrated that the erythrocyte arginase activity of male and female gender for all strains was statistically significantly different.

**Key Words:** Arginase, erythrocyte, Akkaraman, Morkaraman, Awassi

#### Giriş

Arginaz, (L-arginin amidinohidrolaz; EC 3.5.3.1) organizmada ürenin oluşturulmasında kullanılan son basamak enzimi olup hayvanların karaciğerlerindeki L-arginini, üre ve L-ornitine hidrolizini katalizlemektedir (1, 2). Molekül ağırlıkları ise 39.200±400 dalton olan üç subünitenin birleşmesiyle meydana gelen trimetrik bir yapı olduğu belirtilmiştir. Karaciğerde azotu, vücut sıvılarında en iyi çözünebilir ve toksik olmayan formu olan üreye dönüştürerek, idrarla atılımını sağlayıp; hemeostasis yardımcı olmaktadır (3).

Arginaz, üre döngüsünün olmadığı organ ve dokularda prolin, glutamat ve poliaminin sentezlenmesi için gerekli ornitini sağlamaktadır. Organizmada poliamin oluşturulmasında ilk enzim olan arginaz ile sentezlenen ornitin, ornitinde karboksilaz enzimi yardımıyla putressine çevirmektedir. Daha sonra putressin ise spermin ve spermidinin biosentezinde önemli roller oynamaktadır (4, 5).

Arginaz enzimi fare, at, tavşan, sığır, köpek gibi birçok hayvan türünde çeşitli miktarlarda bulunmakla beraber, çoğu bakteri türlerinde de keşfedilmiştir. Çok hücreli canlılarda ve hayvanlarda dağılımı dokuya göre değişmektedir (6, 7).

Arginaz enzimi en çok üre döngüsünün gerçekleştiği karaciğer dokusunda bulunmaktadır (8, 9). Bunun dışında memelilerde kalpte, kaslarda, böbreklerde, beyinde, tiroid bezinde, bağırsakta ve meme bezi gibi organ ve dokularda da varlığına rastlanmaktadır. Eritrosit, makrofaj, fibroblast gibi kan hücrelerinde üre üretilmemesine rağmen enzimin aktif olduğu belirlenmiştir. Özellikle sığır ve koyun eritrositlerinde arginaz aktivitesi saptanmıştır (10, 11).

Çalışmada daha önce literatürlerce farklı dokulara göre değişkenliği gösterilen arginaz enzim düzeylerinin, ilimizde bulunan çeşitli koyun eritrositlerinde cinsiyetleri bakımından bir farklılık olup olmayacağını araştırılması amaçlanmıştır.

**Geliş Tarihi :** 04.07.2017  
**Kabul Tarihi :** 22.01.2018

#### Yazışma Adresi Correspondence

Mustafa Bahadır KAYMAZ  
İnönü Üniversitesi,  
Eczacılık Fakültesi,  
Farmakoloji Anabilim Dalı,  
Malatya – TÜRKİYE

kaymazbahadir@gmail.com

\* 8. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 22-24 Eylül 2016, Bursa.

## Gereç ve Yöntem

Çalışma için Elet Gıda ve Hayvancılık Kesimhanesinden 2-3 yaşlarında gebe olmayan aynı bakım ve şartlarda yaşayan erkek ve dişi Akkaraman, Morkaraman ve İvesi cinsi koyunlar seçilmiştir. Aynı beslenme ve bakım koşullarında yaşayan ve kesim için getirilen hayvanların vena jugularislerinden, heparinli tüplere steril kanüllerle kan örnekleri alınmıştır. Akkaraman cinsinden erkek ve dişi 10'ar örnek, Morkaraman ve İvesi cinslerinden erkek ve dişi 13'er örnek alınmıştır. Araştırma için kullanılacak kanlar kısa süre içinde laboratuvara ulaştırılıp, 2500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Tüplerin üzeri çizildikten sonra plazma bölümü alınıp, geride eritrositlerin kalması için ayrılmıştır. Eritrositler serum fizyolojik (%0.9 NaCl) yıkanıp daha sonra araştırmada kullanılmıştır.

Arginaz aktivitesi ölçümü için Tiyosemikarbazid-Diasetilmonoksim Üre (TDMU) yöntemi kullanılmıştır (12). Diasetilmonoksim, üre ile direk reaksiyona girmemektedir. Bunun için öncelikle asitli ortamda ısının yardımıyla diasetil ve hidroksilamine hidroliz edilmiştir. Diasetil, asit çözeltide üre ile muamele edilip sarı renkli bileşik olan Diazin oluşturuldu. Meydana gelen sarı rengi kararlı yapmak için Tiyosemikarbazid ve  $Fe^{+2}$  iyonları kullanıldı. Daha sonra spektrofotometrede ölçülen optik dansiteler değerlendirilmiştir.

İstatistiksel analizler için elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Windows SPSS programı kullanılarak tüm grupların ortalaması ve standart sapması bulunup t-testine tabi tutulmuştur.

## Bulgular

Çalışmaya alınan ırkların cinsiyetlerine göre arginaz aktivitesi dağılımı ve gruplar arası farkın istatistiksel değerlendirmesi Tablo 1'de verilmiştir.

Akkaraman cinsi için erkek ve dişi kıyaslama yapıldığında ortalama ve standart sapmalarındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Dişi Akkaraman cinsi koyunlarda erkekler göre arginaz aktiviteleri daha düşük bulunmuştur. Standart sapma değerleri de ortalama değerleri gibi daha düşük seviyede gözlemlenmiştir.

Morkaraman'da Akkaraman'ın aksine, dişilerde erkekler göre daha yüksek arginaz aktiviteleri gözlemlenmiştir ( $P=0.019$ ). 3 cins arasında en düşük değerler bu grupta tespit edilmiştir.

**Tablo 1.** Irkların cinsiyetlerine göre arginaz aktivitesi (Ünite)

Irklar	Grup	n	Ortalama±Std.Sapma	P
Akkaraman	Dişi	10	242.72±19.53	P<0.001
	Erkek	10	332.28±28.05	
Morkaraman	Dişi	13	187.99±50.81	P=0.019
	Erkek	13	138.98±48.19	
İvesi	Dişi	13	296.47±52.51	P=0.033
	Erkek	13	249.12±54.19	

İvesi cinsinde ise cinsiyet arası farklılık yine istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ( $P=0.033$ ). Dişilerde erkekler göre daha yüksek arginaz aktiviteleri gözlemlenmiştir.

## Tarışma

İnsan, sığır ve koyun eritrositleri üre döngüsü aracılığıyla üre sentez edememektedirler. Buna rağmen eritrositlerinde aktif olan bir arginazın metabolizması olduğu çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir (13).

Gülen ve ark. (14) yaptığı çalışmada Akkaraman, Dağlıç, Rambouillet ırklarının eritrosit arginaz aktivitesi incelenmiş, değişik koyun ırkları arasında bu aktivitenin anlamlı derecede farklı olduğu gözlemlenmiştir. Akkaraman ırkı eritrositlerinde diğer ırklara göre daha yüksek seviyelerde arginaz ölçülmüştür. Yine aynı ırkların kuzularında yapılan ölçümlerde de benzer sonuçlar bulunmuştur. Çalışmada da türler arası farklılığın anlamlı gözlemlenmesi bunu destekler niteliktedir. Buna ek olarak yine çalışmada türlerin kendi aralarında erkek ve dişi cinsiyetlerinde de farklı derecelerde anlamlılık gözlemlenmiştir.

Güner ve ark. (15) yaptığı başka bir çalışmada gebelik döneminde, eritrosit arginaz aktivitesinde, anlamlı bir düşüş tespit etmişlerdir. Bu düşüşte arginaz aktivitesinde hormonal değişikliğin etkili olabileceği yorumu yapılmıştır. Yine gebelikteki insan eritrositlerindeki arginaz aktivite düşüşü de Özdemir ve ark. (16) yaptığı çalışmayı destekler niteliktedir. Çalışmada da erkek ve dişiler arasındaki farklılığın dişilerin metabolik farklılığından ileri gelebileceği düşünülmektedir.

Gebelikte ve doğumdan sonra Akkaraman ve İvesi koyunlarının eritrosit arginaz seviyelerinin ölçüldüğü bir başka ırklar arası karşılaştırmalı çalışmada Akkaraman ırkına ait seviyelerin İvesiye göre anlamlı yüksek olduğu belirlenmiştir. Gebelikteki dişilik hormonları salınımındaki farklılık bu sonucu ortaya çıkarmış olabilir (17). Çalışmadaki erkek ve dişiler arasındaki fark bu sebebe bağlı olabilir.

Arginazın erkeklik ve dişilik hormonları üzerinde etkili olup, seksüel disfonksiyon bozukluğu tedavilerinde göz önüne alınması gerektiği literatürde söylenmiştir. Bunu cinsel organlardaki L-argininin regülasyonunun nitrik oksit sentezine neden olmasıyla açıklamışlardır (18). Cinsiyet steroid hormonlarının nitrik oksit sentezini ve arginaz aktivitesini değiştirdiği bilinmektedir (19).

Khaled ve ark. (20) arginaz inhibitörlerinin farmakokinetik ve farmakodinamiklerinden bahsettiği literatürde,  $\alpha$ -diflorometilornitin (DMFO), N $\omega$ -hidroksi-nor-l-arginin (nor-NOHA) gibi kimyasal maddeler veya salvianolik asit B (SAB), piseatannol-3-O- $\beta$ -d-glukopiranosid (PG) bitkisel kaynaklı maddelerden etkilendiği gibi organizmanın kendi farklılığından, cinsiyetinden ve çeşitli hastalıklar (astım, şeker, kanser, diyabet vb.) da ileri gelebileceğini belirtmişlerdir. Çalışmada da buna benzer farklılıklar bulunmuştur.

Kan glikozu seviyesinin eritrosit arginaz seviyesi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, arginaz aktivitesinden sorumlu bazı yapıların glikozillenebildiğinden kan glikoz seviyesiyle güçlü bir ilişkisi olduğu söylenmiştir (21). Çalışmadaki erkek ve dişi cinsiyetler arasındaki enzim aktivite farklılığı erkek ve dişilerdeki kan şekeri düzeyi farklılığından kaynaklanabileceği fikrini oluşturmuştur.

Sonuç olarak, daha önceki literatürlerde koyun ırklarının cinsiyetlerine göre kıyaslayan çalışmalara rastlanılmadığı için Akkaraman, Morkaraman ve İvesi ırklarının cinsiyetleri eritrosit arginaz düzey farklılığı hormonal ve metabolik farklılıklarından dolayı değişiklik gösterebileceği fikri akla gelmektedir. Elde edilen sonuçların ileride yapılacak başka çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

### Kaynaklar

- Colombo JP, Konarska L. Arginase. In: Bergmayer Grabi M (Editor). *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd Edition, Weinheim: Verlag Chemie, 1984: 285-294.
- Keleşoğlu G. Bir Arginaz Enzim İnhibitörü Olan Nor-noha'nın Meme Kanseri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
- Brusdeilins M, Kühner R, Schumacter K. Purification, affinity to anti-human arginase immunoglobulin-sepharose 4 B and subunit molecular weights of mammalian arginases. *Biochimica et Biophysica Acta* 1985; 840: 79-90.
- Pegg AE, Mccann P. Polyamine metabolism and function in mammalian cells and protozoans. *Biochem Educ* 1988; 11-18.
- Pegg AE, Mccann P. Polyamine metabolism and function. *Am J Physiol-Cell Physiol* 1982; 243: 212-221.
- Brown GW, Cohen PP. Activities of urea-cycle enzymes in various higher and lower vertebrates. *Biochem J* 1960; 75: 82-91.
- Halifeoğlu İ. İnsan Karaciğer, Eritrosit ve Uterus Doku Arginazının Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1993.
- Kepka-Lenhart D, Ash DE, Morris SM. Determination of mammalian arginase activity. *Methods in Enzymology* 2008; 440: 221-230.
- Moreno-Vivian C, Soler G, Castillo F. Arginine catabolism in the photo tophic bacterium *Rhodo bactercapsulatus* E1F1. *Eur J Biochem* 1992; 204: 531-537.
- Spector EB, Rice SCH, Cederbaum SD. Immunologic studies of arginase in tissues of normal human adult and arginase-deficients patients. *Pediatr Res* 1983; 17: 941-944.
- Gürsu MF, Doğrul M, Temizer S. Çeşitli türlerde plazma üre düzeyleri ile eritrosit arginazları arasındaki ilişki. *FÜ Sağlık Bil Dergisi* 1997; 11: 91-98.
- Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem* 1997; 39: 412-417.
- Kandemir FM, Özdemir N. Koyun dalak doku arginazının bazı kinetik özellikleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2009; 15: 553-559.
- Gülen Ş, Türkoğlu C, Ayabakan Ş. Bazı Orta Anadolu koyunlarının eritrositlerinde arginaz aktivitesinin dağılımı. *Doğa Bilim Dergisi: Veterinerlik ve Hayvancılık* 1983; 7: 175-186.
- Güner S, Şeker H, Şendoğan G. Gebeliğin ve hiperprolaktineminin kadınlarda tükürük ve eritrosit arginaz düzeylerine etkileri. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 1995; 12: 99-104.
- Özdemir Y, İlhan N, Halifeoğlu İ, Gülen Ş. Biyokimyasal parametrelerin gebelik boyunca değişimi. *Biyokimya Dergisi* 1990; 15: 33-40.
- Ozan ST, Yaralıoğlu S, İleri T. Akkaraman ve İvesi koyunlarında, gebelikte ve doğumdan sonra eritrosit, tükürük ve serum arginaz aktiviteleri ile serum üre ve östrojen düzeyleri. *Tr J Vet Anim Sci* 1999; 23: 345-350.
- Cama E, Diana M, Colleluori DM, et al. Human arginase II: Crystal structure and physiological role in male and female sexual arousal. *Biochemistry* 2003; 42: 8445-8451.
- Traish AM, Kim NN, Huang YH, et al. Sex steroid hormones differentially regulate nitric oxide synthase and arginase activities in the proximal and distal rabbit vagina. *International Journal of Impotence Research* 2003; 15: 397-404.
- Khaled AS, Lack K, Elbarby F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of promising arginase inhibitors. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 2017; 42: 355-370.
- Akgün A, Çakır E, Gülen Ş. Değişik glikoz konsantrasyonlarının eritrosit arginaz aktivitesi üzerine etkisi. *Trakya Tıp Fakültesi Dergisi* 1998; 15: 77-81.