

## SUPLEMENTAL OLARAK ÇİNKO UYGULANAN TAVUKLARDA NİTRİK OKSİT OKSİDASYON ÜRÜNLERİ VE ANTIOKSİDAN VİTAMİN DÜZEYLERİ

Semiha Dede<sup>1</sup>@ Yeter Değer<sup>1</sup> Tahir Kahraman<sup>1</sup> Nurcan Dönmez<sup>2</sup>

### Concentration of Nitric Oxide Oxidation Products and Antioxidant Vitamins in Chicken Fed with Supplemental Zinc

**Summary :** The aim of this study is to determine of the effect of supplemental zinc on the concentration of the oxidation products of nitric oxide and antioxidant vitamins in chicken serum. Chicken were divided into three experimental groups and one control group, each group containing seven chicken. The experimental groups were treated supplement zinc (125, 500, 1000 ppm). The concentration of nitric oxide oxidation products and antioxidant vitamins in the serum of zinc treated chicken were analysed with spectrophotometrically. Nitrate (ppm), nitrite (ppm), vitamin E (mg/dl), vitamin C (mg/dl) concentrations of experimental groups 1., 2., 3. and control group were found ; 6.16, 6.41, 13.16, 7.38, 1.09, 1.20, 1.30, 1.78; 0.121, 0.326, 0.247, 0.313; 0.927, 1.682, 1.204, 1.323 respectively. Nitrite levels of control groups was found higher than experimental groups 1, and 2 ( $p<0.05$ ). Nitrate levels were not significantly differentes between groups. The vitamin E concentration of 1 experimental group was lower than other groups ( $p<0.05$ ). The vitamin C concentration of 2 experimental group was higher than 1 and 3 experimental groups ( $p<0.05$ ). In conclusion; the concentration of nitric oxide oxidation products in serum of zinc treated chicken were not differentes between groups, but the antioxidant vitamins levels were increased. These results support the idea that zinc has an important rol in the metabolism as an antioxidant trace element in chicken.

**Key words:** Chicken, zinc, nitrate, nitrite, vitamin

**Özet:** Tavuklarda çinko uygulanmasının, serum nitrik oksit oksidasyon ürünleri ve antioksidan maddeler olan vitamin E, vitamin C konsantrasyonları üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmada, her biri 7 hayvandan oluşan 3 deneme ve 1 kontrol grubu oluşturuldu. Farklı dozda çinko (125, 500, 1000 ppm) içeren su verilen tavukların kan serumunda nitrik oksit oksidasyon ürünleri (nitrat, nitrit) ve antioksidan vitaminlerin (vitamin E, vitamin C) konsantrasyonları spektrofotometrik olarak ölçüldü. 1., 2., 3. deneme grupları ve kontrol grubunda sırasıyla nitrat (ppm) 6.16, 6.41, 13.16, 7.38, nitrit (ppm) 1.09, 1.20, 1.30, 1.78, vitamin E (mg/dl) 0.121, 0.326, 0.247, 0.313, vitamin C konsantrasyonları (mg/dl) 0.927, 1.682, 1.204, 1.323 olarak belirlendi. Nitrit (NO<sub>2</sub>-) konsantrasyonu kontrol grubunda 1 ve 2. deneme gruplarına göre yüksek bulunurken ( $p<0.05$ ), nitrat (NO<sub>3</sub>-) seviyeleri bakımından gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu saptandı. Vitamin E konsantrasyonunun, 1. deneme grubunda diğer bütün gruplardan önemli oranda düşük ( $p<0.05$ ) olduğu, vitamin C nin ise 2. deneme grubunda, diğer deneme gruplarına oranla arttığı ( $p<0.05$ ) tespit edildi. Bu çalışmada, çinko uygulanan tavukların kan serumunda, antioksidan vitamin düzeylerinin artmasının ve nitrik oksit oksidasyon ürünlerinde önemli bir farklılık olmamasının, tavuklarda antioksidan bir madde olarak çinkonun önemine işaret edebileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Tavuk, çinko, nitrat, nitrit, vitamin

### Giriş

Çinko, normal hücrelerdeki katalitik reaksiyonlar için gerekli olan önemli bir esansiyel iz elementtir. Süperoksit dismutaz, laktat dehidrogenaz, alkalen fosfataz, karbonik anhidraz gibi enzimlerin yapısında kofaktör olarak bulunur (Williams, 1984; Murray ve ark., 1993). Ayrıca geçiş metalleri ile reaktif oksijen üretimini inhibe ederek ve oksidasyona karşı sülfhidril gruplarını koruyarak antioksidan olaylara dolaylı olarak katılmaktadır

(Bray ve Bettger, 1990; Disilvestro,2000; Wapnir, 2000).

Son yıllarda üzerinde pek çok araştırma yapılan nitrik oksit (NO-), endotel hücre, makrofaj, nöron ve düz kas hücresinde, en önemli kofaktörü NADPH olan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile L-arjinin amino asidinden sentezlenen bir biyolojik mediatördür. Fizyolojik şartlarda salgılanmakla birlikte, inflamasyon, portal hipertansiyon, diabetes mellitus, septik şok gibi patolojik durumlarda yer alır. NO,

düşük konsantrasyonlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> gibi serbest radikalleri ve immunositleri inhibe ederek lipid peroksidasyonunu önler. Kontrol edilemeyen patolojik durumlarda NO üretimi, fizyolojik değişikliklere ve patofizyolojik cevaplara neden olur. İn vivo şartlarda stabil olmayan NO, kısa sürede prokanserojen özellikteki nitrat (NO<sub>3</sub>) ve nitrit (NO<sub>2</sub>) e dönüşmektedir. Bu nedenle organizmadaki NO miktarını anlamak için nitrik oksit oksidasyon ürünleri olan nitrat ve nitrit konsantrasyonları ölçülmektedir. (Moncada ve ark., 1991; Bredt ve Snyder, 1992; Bredt ve Snyder, 1994; Toreilles ve Guyerin, 1995).

Antioksidan maddeler arasında yer alan vitamin E ve vitamin C, serbest radikallerin hücre membranı üzerindeki yıkıcı etkilerine karşı koruyucu olarak görev yapmaktadırlar (Nockels, 1988; Murray ve ark., 1993; Kanter, 1994; Sthal ve Sies, 1997).

Bu çalışmada, tavukların serum nitrik oksit oksidasyon ürünleri ve antioksidan maddelerden vitamin E, vitamin C konsantrasyonları üzerine, suplemantal olarak çinko uygulanmasının etkileri araştırıldı.

### Materyal ve Metot

Araştırma materyali olarak Scanbird ırkı tavuklar kullanıldı. Her biri 1'er günlük 7 hayvandan oluşan üç deneme ve bir kontrol grubu oluşturuldu. ZnSO<sub>4</sub> in distile suda 125, 500, 1000 ppm lik çözeltileri hazırlanarak, sırasıyla 1, 2 ve 3 deneme gruplarının suluklarına ilave edildi. 60. günde hayvanların kanat altı venasından usulüne uygun olarak kan alınıp, serumları ayrıldı. Serumlarda nitrik oksit oksidasyon ürünlerinin (nitrat, nitrit) kon-

santrasyonları coupling ayırıcı ile Sthar (1977), vitamin E Martinek (1964) ve vitamin C Omaye ve ark. (1979), metotlarına göre spektrofotometrik olarak tayin edildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak Duncan testine göre değerlendirildi (Düzgüneş ve ark., 1987).

### Bulgular

Suplemantal olarak çinko verilen tavuklarda serum NO oksidasyon ürünleri (nitrat, nitrit) ve vitamin E, vitamin C düzeyleri tablo 1 de gösterilmiştir.

Nitrit (NO<sub>2</sub>) konsantrasyonunun, kontrol grubunda 1 ve 2. Deneme gruplarına göre p<0.05 oranında daha yüksek olduğu bulundu. Tavukların kan serumunda nitrat konsantrasyonları arasındaki farkın Duncan' a göre önemli olmadığı gözlemlendi.

Vitamin E konsantrasyonlarının 1. deneme grubunda, diğer gruplardan önemli oranda düşük olduğu bulundu (p<0.05).

1. deneme grubundaki vitamin C düzeyinin, 2. deneme grubu ve kontrol grubuna göre azaldığı (p<0,05), 3. deneme grubundaki Vitamin C konsantrasyonunun ise 2. deneme grubuna göre daha düşük olduğu saptandı (p<0.05).

### Tartışma ve Sonuç

Çinko, antioksidan koruma sisteminde membran dayanıklılığını artırarak ve oksidatif yıkıma karşı antioksidan bir madde olarak kritik bir rol oynamaktadır (Underwood, 1977; Bettger ve ark., 1980; Bray ve Bettger, 1990; Pleva ve ark., 1992; Disilvestro, 2000; Wapnir, 2000). Besinsel olarak alınan çinko miktarları organizmadaki antioksidan sis-

Tablo 1. Suplemantal olarak çinko uygulanan tavukların serum NO oksidasyon ürünleri (nitrat, nitrit) ve antioksidan vitamin konsantrasyonları

Gruplar	n	Nitrik Oksit Oksidasyon Ürünleri		Antioksidan Vitaminler	
		Nitrat (NO <sub>3</sub> )- (ppm)	Nitrit (NO <sub>2</sub> )- (ppm)	Vitamin E (mg/dl)	Vitamin C (mg/dl)
1. Grup (125 mg/kg)	7	6.16 ± 0.33	1.09 ± 0.09	0,121 ± 0,017 b	0,927 ± 0,045c
2. Grup (500 mg/kg)	7	6.41 ± 0.40	1.20 ± 0.15	0,326 ± 0,045	1,682 ± 0,091
3. Grup (1000 mg/kg)	7	13.16 ± 4.51	1.30 ± 0.17	0,247 ± 0,032	1,204 ± 0,129d
Kontrol	7	7.38 ± 0.37	1.78 ± 0.22a	0,313 ± 0,025	1,323 ± 0,409

a: 1 ve 2 gruplara göre yüksek (p<0.05)

b: 2. ve 3. gruplara göre düşük (p<0.05)

c: 2. ve kontrol grubuna göre düşük (p<0.05)

d: 2. gruba göre düşük (p<0.05)

tem üzerinde de etki göstermektedir (Nagorna-Stasiak ve ark., 1993; Shaheen and el- Fattah, 1995; Sunderasan ve ark., 1996; Roth ve Kirchgessner, 1997; Preziosi ve ark, 1998;). Pleva ve ark. (1992), çinkonun tavuklarda stresi önleyici bir madde olduğunu, Roth and Kirchgessner (1997) ise çinko noksanlığı oluşturulan ratların kan plazmasında lipit peroksidasyon ürünlerinin arttığını, bununla birlikte glutatyon, GSH Px ve SOD aktivitesinin azaldığını ( $p < 0.05$ ), bunu önlemek için dışarıdan antioksidan uygulamalarının yararlı olacağını bildirmektedirler. Antioksidan özellikli iz element (Cu, Zn, Mn) ve vitaminlerin (vitamin E, C, A) besinlerle birlikte uygulanması, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan seviyelerini etkilemektedir (Monget ve ark., 1996).

Fizyolojik olarak da sentezlenen nitrik oksidin seviyeleri üzerinde, yüksek dozda çinko uygulamasının negatif etkisinin olduğu, bu etkinin de nitrik oksit sentezini düzenleyen melatonin üzerindeki baskılayıcı özelliğinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Chen ve ark.,1999). Perry ve ark. (2000), Zn<sup>2+</sup> un NADPH a bağlı bütün reaksiyonlar ve dolayısı ile nNOS (nitrik oksit sentaz) katalizi üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu ileri sürmektedirler. Sunulan çalışmada, nitrik oksit oksidasyon ürünlerinden nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) konsantrasyonlarının gruplar arasındaki farkının, önemli olmadığı saptandı. Bununla birlikte nitrat konsantrasyonlarının kontrol grubunda daha yüksek bulunmasının yukarıdaki literatür bilgileri ışığında, çinkonun NO üretimindeki inhibitör etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Nagorna-Stasiak ve ark. (1993), dışarıdan çinko uygulanmasının, organizmada vitamin C sentezini sağlayan D- glukronik asit ve L-gulonogamma-oksidadaz enzim aktivitesi üzerinde artışa neden olduğunu, bu artışın aynı zamanda vitamin C' nin barsaktan absorpsiyonunu arttırmasından da kaynaklandığını vurgulamaktadırlar. Bu çalışmada ise 500 ppm çinko uygulanan gruptaki vitamin C konsantrasyonunun, diğer iki deneme grubundan ve kontrol grubundan yüksek olduğu görüldü. Buradan hareketle, yeterli miktarda çinko ilavesinin vitamin C konsantrasyonu üzerinde artırıcı etkisinin olduğu söylenebilir.

Chen ve ark. (1999), çinkonun organizmada lipit metabolizması üzerinde etkili olduğunu, dışarıdan uygulandığında, ratlarda serum serbest yağ asidi seviyesini artırdığını, Bunk ve ark. (1989) ise, çinko noksanlığında, trigliserid ve kolesterol düzeylerinin azaldığını belirtmektedirler. Plazmada lipoproteinlere bağlanarak taşınan vitamin E kon-

santrasyonlarının da çinko miktarlarından etkilenmesi doğaldır. Bunk ve ark. (1989), membran dayanıklılığını arttıran ve peroksidatif yıkıma karşı koruyucu olan çinko ve vitamin E arasında bir sinerji olduğunu, çinko noksanlığının vitamin E ihtiyacını arttırdığını bildirmektedirler. Ayrıca çinkonun vitamin E nin barsaklardan absorpsiyonu üzerinde de artırıcı etkisi vardır (Honkanen ve ark., 1989; Kim ve ark., 1998). Bu çalışmada görüldüğü üzere, daha yüksek miktarda çinko ilave edilen grupların serum vitamin E konsantrasyonlarının önemli oranda yüksek bulunması, çinkonun vitamin E emilimi üzerindeki etkisini doğrular niteliktedir.

Sonuç olarak, çinko ilave edilmiş su verilen tavukların kan serumunda, patolojik durumlarda artış gösteren ve hücrelere zarar veren nitrik oksit oksidasyon ürünlerinin artmadığı görüldü. Bununla birlikte antioksidan vitaminler olan vitamin E ve C serum düzeylerinin çinko ilavesi ile önemli oranda arttığı saptandı. Bu veriler, tavuklarda çinkonun antioksidan özelliğinin ortaya konulması açısından önemlidir.

#### Kaynaklar

- Bettger, W.J., Reeves,P.G., Savage, J.E., O'Dell B.L. (1980). Interaction of Zinc and Vitamin E in The Chick. Vet. Bullet., 050-06769.
- Bray, T.M., Bettger, W.J. (1990). The Physiological Role of Zinc as an Antioxidant. Free Radic. Biol. Med., 8,3, 281-291.
- Bredt, D.S., Snyder, S.H. (1992): Nitric Oxide, A Novel Neuronal Messenger. Neuron, 8,3-11.
- Bredt, D.S., Snyder, S.H. (1994). Nitric Oxide, A Physiological Messenger Molecule. Annu. Rev. Biochem., 63,175-195.
- Bunk, M.J., Dnistrian, A.M., Schwartz, M.K., Rivlin, R.S. (1989). Dietary Zinc Deficiency Decreases Plasma Concentrations of Vitamin E. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 190, 4, 379-384.
- Chen, M.D., Lin, P.Y., Sheu, W.H. (1999). Zinc Co-administration Attenuates Melatonin's Effect on Nitric Oxide Production in Mice. Biol. Trace Elem. Res., 69, 3, 261-268.
- Disilvestro, R.A.(2000). Zinc in Relation to Diabetes and Oxidative Disease. J. Nutr., 130, 1509-1511.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F.(1987). "Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik Metotları-1)", A.Ü. Zir.Fak.Yay. No:1021, Ankara.
- Honkanen, V., Konttinen, Y.T., Mussalo-Rauhamaa, H. (1989). Vitamins A and E, Retinol Binding Protein and Zinc in Rheumatoid Arthritis. Clin. Exp. Rheumatol., 7, 5, 465-469.
- Kanter, M.M. (1994). Free Radicals, Exercise, and An-

- tioxidant Supplementation. *Int. J. Sport Nutr.*, 4, 3: 205-220.
- Kim, E.S., Noh, S.K., Koo, S.I. (1998). Marginal Zinc Deficiency Lowers The Lymphatic Absorption of  $\alpha$ -Tocopherol in Rats. *J. Nutr.*, 128, 2, 265-270.
- Martinek R (1964). Method For Determination of Vitamin E (Total Tocopherol) in Serum. *Clin. Chem.*, 10, 12, 1078-1086.
- Moncada, S., Palmer, R.M.J., Higgs, E.A. (1991). Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 43, 2, 109-142.
- Monget, A.L., Richard, M.J., Cournot M.P., Arnaud J., Galan P., Preziosi P., Herbeth B., Favier A., Hercberg S. (1996). Effect of 6 Month Supplementation with Different Combinations of an Association of Antioxidant Nutrients on Biochemical Parameters and Markers of The Antioxidant Defence System in The Elderly. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 50, 7, 443-449.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W. (1993). "Harper ' in Biyokimyası". Çev. G. Menteş, B. Ersöz, Barış Kitabevi, İstanbul.
- Nagorna-Stasiak, B., Lechowski, J., Lazuga-Adamczyk, A. (1993). The Effect of Zinc on Synthesis and Absorption of Vitamin C in Chickens. *Vet. Bulletin.*, 063-07493.
- Nockels, C.F. (1990). Immunoenhancing Vitamins For Cattle. *Agri. Practice.*, 9, 2, 10-13.
- Omaye, S.T., Turnbull, J.D., Savberlich, H.E. (1979). Ascorbic Acid Analysis. II. Determination After Derivatisation with 2,2-Dinitrophenylhydrazine. Selected Methods for Determination of Ascorbic Acid in Animal Cells, Tissues and Fluids. *Meth. Enzymol.*, 62, 7-8.
- Perry, J.M., Zhao, Y., Marletta, M.A. (2000). Cu<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> inhibit Nitric-Oxide Synthase Through an interaction with The Reductase Domain. *J. Biol. Chem.*, 275, 19, 14070-14076.
- Pleva, J., Cabadaj R., Mate, D., Nagy, J. (1992). Zinc in Prevention of Poultry Stress. *Fol. Vet.*, 36, 1/2, 79-89.
- Preziosi, P., Galan, P., Herbeth, B., Valeix, P., Roussel, A.M., Malvy, D., Paul-Dauphin, A., Arnaud, J., Richard, M.J., Briancon, S., Favier, A., Hercberg, S. (1998). Effects of Supplementation with A Combination of Antioxidant Vitamins and Trace Elements, at Nutritional Doses, on Biochemical indicators and Markers of The Antioxidant System in Adult Subjects. *J. Am. Coll. Nutr.*, 17, 3, 244-249.
- Roth, H.P., Kirchgessner, M. (1997). Supplementation with Vitamin C, Vitamin E or  $\beta$ -Carotene Influences Osmotic Fragility and Oxidative Damage of Erythrocytes of Zinc-Deficient Rats. *J. Nutr.*, 127, 7, 1290-1296.
- Shaheen, A.A., El-Fattah, A.A. (1995). Effect of Dietary Zinc on Lipid Peroxidation, Glutathione, Protein Thiols Levels and Superoxide Dismutase Activity in Rat Tissues. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 27, 1, 89-95.
- Stahl, W., Sies, H. (1997). Antioxidant Defense: Vitamins E and C and Carotenoids. *Diabetes* 46, Suppl 2, 14-18.
- Sthar, H.M. (1977). "Analytical Toxicology Methods Manual". Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
- Sundaresan, P.R., Kaup, S.M., Wiesenfeld, P.W., Chirtel S.J., Hight S.C., Rader J.I. (1996). Interactions in indices of Vitamin A, Zinc and Copper Status When These Nutrients are Fed to Rats at Adequate and increased Levels. *Br. J. Nutr.* 75, 6, 915-928.
- Torreilles, J., Guşerin, M.C. (1995). Does Nitric Oxide Stress Exist? *C.R. Sean. Soc. Biol. Fil.*, 189, 3, 389-400.
- Underwood, E.J. (1977). "Trace Elements in Human and Animal Nutrition". 4.Th. Ed., Academic Press, New York, London.
- Wapnir, R.A. (2000). Zinc Deficiency, Malnutrition and The Gastrointestinal Tract. *J. Nutr.*, 130, :1388-1392.
- Williams R.P.J. (1984). Zinc: What is Its Role in Biology? *Endeaouvr. New Series*, 8, 2, 65-70.