



## Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz, Glutatyon Peroksidaz, Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat ve Glutatyon ile Süt Kalite Parametreleri Arasındaki İlişkiler \*

Zeynep AKIN<sup>1a</sup>, Pınar Peker AKALIN<sup>1b</sup>, Filiz KAZAK<sup>1c✉</sup>, Yaşar ERGÜN<sup>2d</sup>, Nuri BAŞPINAR<sup>3e</sup>

1. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.

2. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.

3. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0001-8812-3176<sup>a</sup>, 0000-0002-6991-3727<sup>b</sup>, 0000-0002-9065-394X<sup>c</sup>, 0000-0002-1414-9100<sup>d</sup>, 0000-0002-5481-1111<sup>e</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
19.04.2019	20.06.2019	25.10.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**  
**Akın Z, Akalın PP, Kazak F, Ergün Y, Başpınar N:** Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz, Glutatyon Peroksidaz, Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat ve Glutatyon ile Süt Kalite Parametreleri Arasındaki İlişkiler. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(2): 193-200, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.555594

**Öz:** Bu çalışmada; Holstein ırkı sığırlarda süt G6PD, GPx, redükte NADPH ve rGSH düzeyleri ile süt verimi ve süt kalitesi ile arasındaki ilişkilerin belirlenmesi, böylelikle ilgili parametrelerin süt kalitesi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Klinik olarak sağlıklı 20 adet Holstein ırkı sığırdan süt örnekleri toplanmıştır. Süt verimi çiftlikte tutulan rutin kayıtlardan tespit edilmiştir. Sütlerde kalite parametreleri olan süt yağı %, protein %, laktoz %, kuru madde %, yağsız kuru madde %, üre % ve kazein % analizleri süt komponentleri ölçüm cihazı ile, süt hücre süpernatantlarında G6PD ve GPx aktiviteleri ile NADPH, rGSH ve total protein düzeyleri ise spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Süt laktoz düzeyleri ile süt hücre G6PD aktivitesi ( $r=-0.574$ ,  $p<0.05$ ) ve NADPH düzeyleri ( $r=-0.485$ ,  $P<0.05$ ) arasında negatif korelasyonlar belirlenmiştir. Süt somatik hücre sayısı ile süt hücre G6PD aktivitesi ( $r=0.708$ ,  $P<0.01$ ) ve süt hücre NADPH düzeyleri ( $r=0.609$ ,  $P<0.01$ ) arasında pozitif korelasyonlar belirlenmiştir. Süt somatik hücre sayısı ile süt hücre NADPH düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon ( $r=0.630$ ,  $P<0.01$ ) belirlenmiştir. Sonuç olarak sağlıklı inek sütünde, anılan parametreler ile süt verimi ve süt kalite parametreleri arasında, laktoz ve G6PD dışında, belirgin bir korelasyon belirlenmemiştir. Laktoz ile G6PD arasındaki bu ilişkinin yapılacak çalışmalar ile detaylandırılması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** G6PD, NADPH, Somatik hücre sayısı, Süt kalite parametreleri.

## The relationships of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, Glutathione Peroxidase, Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate and Glutathione with Milk Quality Parameters

**Abstract:** In this study, it was aimed to determine the relationship between with G6PD, GPx, NADPH, rGSH and milk yield and milk quality, to evaluate the effect of these parameters on milk quality, in Holstein cattle. Milk samples were collected from 20 healthy Holstein cattle. Milk yield was obtained from routine farm datum. The analyses of milk fat %, protein %, lactose %, non-fat dry matter %, urea % and casein % were held by "milk components measuring instrument", and G6PD and GPx activities in milk cell supernatants along with NADPH, rGSH and the total protein levels were assessed by spectrophotometric methods. Milk lactose levels (%) were negatively correlated with milk cell G6PD activity ( $r=-0.574$ ,  $P<0.05$ ) and NADPH levels ( $r=-0.485$ ,  $P<0.05$ ). Milk cell G6PD activity ( $r=0.708$ ,  $P<0.01$ ) and milk cell NADPH levels ( $r=0.609$ ,  $P<0.01$ ) were positively correlated with somatic cell count. A positive correlation ( $r=0.630$ ,  $P<0.01$ ) was determined between the somatic cell count and milk cell NADPH levels. In conclusion, there was no correlation between milk yield and milk quality parameters with the related parameters, except for lactose levels, in healthy cattle milk. It is suggested to investigate the relationship between lactose and G6PD with further studies.

**Keywords:** G6PD, NADPH, Milk quality parameters, Somatic cell count.

✉ Filiz Kazak

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay, TÜRKİYE.

e-posta: filizkazak@mku.edu.tr

\*Bu çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde yürütülmüş olan yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

## GİRİŞ

**B**ileşiminde çok sayıda besin ögesini bulundurmasından dolayı süt ve süt ürünleri insan hayatının tüm evrelerinde tüketilmesi önerilen besinlerin başında gelmektedir. Süt ve süt ürünlerinin değerini belirleyen en önemli faktör sütün bileşimidir. Sütün bileşiminde bulunan yağ, protein, laktoz, vitamin, enzim, hormon ve peptit yapılı öğeler önemli bir yere sahiptir. Günümüzde sütte kalite; etkin kontrol ve denetimin yapılabilmesi ve halk sağlığının korunabilmesi amacıyla 'çiftlikten sofraya gıda güvenliği' olarak ifade edilmektedir (1). Süt kalite parametreleri süt somatik hücre sayısı (2, 3), protein (4), yağ (5), laktoz (6) ve toplam kuru madde miktarı (5) olarak bildirilmektedir.

Somatik hücre; kandan süte geçmiş lökositler ve meme bezi epitel hücrelerinden oluşmaktadır (7). Tüm süt tipleri, polimorfonükleer hücreler, lenfositler ve makrofajlarla temsil edilen belirli bir miktarda somatik hücre içerir. Süt somatik hücrelerinin çok büyük bir kısmını lökositler (lenfosit, nötrofil ve makrofaj) oluştururken daha düşük bir kısmını epitel hücreleri oluşturur. Somatik hücre sayımı, sütün hijyenik kalitesinin bir göstergesi olarak kullanılır (8).

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD, EC 1.1.1.49); bakteri, mantar, protozoa, balık ve memelileri içeren geniş bir canlı topluluğunda bulunmaktadır. Bu nedenle her canlıda var anlamına gelen 'ubiquitous' enzim olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca üstlendiği biyokimyasal rol nedeni ile 'housekeeping' enzim olarak da isimlendirilmektedir (9, 10). Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, memelilerde redükleyici ajan olarak görevli sitozolik redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH+H<sup>+</sup>)'in oluşumu için tek kaynak olan pentoz fosfat yolunun ilk ve hız belirleyici enzimidir. Pentoz fosfat yolunun temel amacı, redükleyici güce sahip olan NADPH+H<sup>+</sup> ile DNA ve RNA'nın yapı taşı olan riboz-5-fosfat üretmektir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, rejenere edilen glutatyon (GSH) sayesinde hücre membranlarının serbest radikallerden korunmasını sağlayarak hücre bütünlüğünü korur (11). Glutatyon

peroksidaz (GPx), redükte GSH (rGSH)'ı oksitleyerek okside glutatyon (GSSG)'a dönüşümünü katalize ederken, önemli toksik maddelerden biri olan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'in moleküler oksijen ve suya dönüşümünü sağlar (12). Meme dokusu epitel hücreleri ve süt lökositlerinden izole edilen G6PD, meme dokusunda ihtiyaç olan NADPH+H<sup>+</sup>'ların üretimini sağlayan önemli bir enzim olarak kabul edilmektedir. Meme dokusu, süt üretimi için farklılaştıkça, NADPH+H<sup>+</sup> ihtiyacı ve buna bağlı olarak G6PD aktivitesi de değişmektedir (13).

Bu kapsamda, sunulan çalışmada Holstein ırkı sığırlarda süt hücre süpernatantlarında G6PD ve GPx aktiviteleri ve NADPH, rGSH ve total protein (TP) düzeyleri ile süt kalite parametreleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Özel bir süt işletmesinden klinik olarak sağlıklı 20 adet Holstein ırkı sığırdan süt örnekleri toplandı. Sütler (200'er mL), klinik olarak sağlıklı görünen memelerin ön sağ lobundan alındı. Süt verimi ile ilgili veriler, nisan ayı içinde, çiftlikte tutulan kayıtlardan elde edildi.

### Süt Verimi ve Kalite Analizleri

Süt kalite analizleri için alınan süt örneklerinde somatik hücre sayımı Somacount 150 hücre sayım cihazında; % olarak süt örneklerinde yağ, protein, laktoz, kuru madde, yağsız kuru madde, üre ve kazein analizleri ise süt komponentleri ölçüm cihazı (Bentley 150) ile yapıldı.

### Süt Numunelerinin Hazırlanması

Sütler somatik hücrelerin ayırılması için 800 x g'de +4 °C'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üstteki yağ tabakası koton bir aparat ile alındıktan sonra üstteki süpernatant uzaklaştırılarak kalan pellet 2 defa soğuk fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı ve her defasında 1800 x g'de +4 °C'de 15 dk santrifüj edildi. Sonunda üstteki süpernatant ayrıldı ve kalan pellete PBS eklenerek soğuk ortamda

10 sn süreli, devamlı siklusta, 30 sn soğutmalı, 4 tekrarlı sonikasyon işlemi uygulandı (14). Sonikasyon sonrasında homojenat 13.000 x g'de +4 °C'de 15 dk santrifüj edilerek üstteki süpernatant toplandı. Süpernatantlar, analizler yapılincaya kadar -80 °C'de saklandı.

#### **Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesinin Tayini**

Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi, Beutler (13) tarafından geliştirilen yöntemin modifikasyonu ile belirlendi. Analiz sırasında, süpernatanttan 200 µL kullanıldı. Aktivite tayini, 25 °C'deki NADP<sup>+</sup>'nin 340 nm'deki absorbans değişimi spektrofotometrik olarak (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) ölçüldü. Sonuçlar U/g protein ve U/10<sup>9</sup> hücre olarak ifade edildi.

#### **NADPH Düzeyi Tayini**

NADPH düzeyleri ticari kit (Sigma MAK 038) ile belirlendi. Analiz sırasında, süpernatanttan 60 µL kullanıldı. Sonuçlar pmol/mg protein ve pmol/10<sup>6</sup> hücre olarak ifade edildi.

#### **Redükte Glutasyon Tayini**

Süt hücre süpernatantlarında rGSH aktiviteleri Ellman (15) tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi. Analiz sırasında, süpernatanttan 250 µL kullanıldı. 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit], sülfhidril bileşikler tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturmaktadır. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) ölçülerek GSH aktivitesi saptandı. Sonuçlar nmol/mg protein ve nmol/10<sup>6</sup> hücre olarak ifade edildi.

#### **Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Tayini**

Glutasyon peroksidaz aktivitelerinin tayini Beutler (16) tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. Analiz sırasında, süpernatanttan 20 µL

kullanıldı. Buna göre; GPx, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında GSH'yi GSSG'ye dönüşmesini katalize etmektedir. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla tekrar GSH'a dönüştürülür. Glutasyon peroksidaz aktivitesi, deney ortamındaki NADPH'nin NADP<sup>+</sup>'ya çevrilmesi ile optik dansitede oluşan absorbans farkınının 340 nm'de spektrofotometrik olarak (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) ölçülmesi ile hesaplandı. Sonuçlar U/mg protein ve U/10<sup>6</sup> hücre olarak ifade edildi.

#### **Total Protein Düzeyleri**

Total protein düzeyleri, Bradford (Coomassie Brilliant Blue G, Sigma 27815) yöntemi (17) ile belirlendi. Standart olarak sığır serum albümini (BSA, Sigma-A2153) kullanıldı. Yöntem, boyar maddenin proteinlere bağlanarak renk oluşturması prensibine dayanmaktadır. Absorbans 595 nm'de belirlenerek, spektrofotometrik (UV 2100, UV-VIS Recording Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) olarak protein miktarı tayini gerçekleştirildi. Numunelerin TP düzeyleri belirlenerek, enzim aktiviteleri mg/g protein üzerinden verildi. Total protein sonuçları mg/mL ve mg/10<sup>6</sup> hücre olarak ifade edildi.

#### **İstatistiksel Analiz**

Biyokimyasal analizlerden elde edilen değerlerde, SPSS 23.0 programında descriptive analizleri yapıldı. Parametreler arasındaki korelasyonlar Spearman Testi ile belirlendi. Önem derecesi P<0.05'in altında olanlar istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

#### **BULGULAR**

Süt somatik hücre sayısı (SHS) ve süt hücre süpernatantlarında TP, NADPH, rGSH düzeyleri ile G6PD ve GPx aktiviteleri Tablo 1'de, süt kalite parametreleri sonuçları Tablo 2'de ve süt kalite parametreleri ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar Tablo 3'de sunulmuştur.

**Tablo 1.** Süt somatik hücre sayısı ve süt hücre süpernatantlarında TP, NADPH, rGSH düzeyleri ile G6PD, GPx aktiviteleri (Ort±SH).**Table 1.** Milk somatic cell count and the levels of TP, NADPH, rGSH and the activities of G6PD, GPx in milk cell supernatants (Mean ± SE).

Parametreler	SHS/mL süt x 10 <sup>3</sup>	TP mg/mL	TP mg/10 <sup>6</sup> hücre	NADPH pmol/mg protein	NADPH pmol/10 <sup>6</sup> hücre	rGSH nmol/mg protein	rGSH nmol/10 <sup>6</sup> hücre	G6PD U/g protein	G6PD U/10 <sup>9</sup> hücre	GPx U/mg protein	GPx U/10 <sup>6</sup> hücre
n=20	152.19±48.67	0.18±0.03	0.41±0.10	5.99±0.78	1.86±0.37	142.16±37.06	4.42±1.50	8.74±2.34	0.18±0.04	18.79±1.90	0.63±0.13

SHS:Somatik Hücre Sayısı ; TP: Total Protein; NADPH:Redükte nikotinamid adenin dinükleotid; rGSH:Redükte Glutatyon; G6PD:Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz; GPx:Glutatyon Peroksidaz.

**Tablo 2.** Süt kalite parametreleri (Ort ±SH).**Table 2.** Milk quality parameters (Mean ± SE).

Parametreler	Yağ %	Protein %	Laktoz %	Kuru Madde %	Yağsız Kuru Madde %	Üre %	Kazein %	Verim (1 aylık)
n=20	2.071±0.37	3.50±0.04	4.78±0.06	9.01±0.38	8.94±0.08	6.75±0.62	2.44±0.04	27.36±0.88

**Tablo 3.** Süt kalite parametreleri ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar (r değeri).**Table 3.** Correlations between milk quality parameters and biochemical parameters (r value).

	Protein %	Laktoz %	KM %	YKM %	Üre %	Kazein %	SHS	TP mg/ml	G6PD U/ml	NADPH pmol/ml	rGSH nmol/ml	GPx U/ml	Aylık Süt Verimi
Yağ%	0,516	0,066	0,230	0,362	0,250	0,501*	-0,087	-0,196	-0,046	0,032	0,000	0,039	-0,270
Protein%		0,372	-0,102	0,816**	-0,140	0,907**	0,091	0,381	-0,022	0,153	-0,156	0,305	-0,050
Laktoz%			-0,076	0,805**	-0,149	0,388	-0,407	-0,105	-0,574*	-0,485*	-0,098	0,266	0,220
KM %				-0,161	-0,075	-0,188	-0,119	0,095	-0,076	0,022	0,215	0,128	-0,447
YKM %					-0,136	0,805**	-0,155	0,143	-0,327	-0,110	-0,170	0,375	0,101
Üre%						0,010	-0,186	-0,450	0,211	-0,159	0,271	0,085	0,146
Kazein%							0,029	0,287	-0,063	0,133	-0,140	0,241	-0,056
SHS								0,149	0,708**	0,630**	0,036	0,153	-0,235
TP mg/ml									0,102	0,338	0,070	-0,078	-0,077
G6PD U/ml										0,609**	0,210	0,110	-0,185
NADPH pmol/ml											-0,094	-0,044	-0,400
rGSH nmol/ml												0,143	0,047
GPx U/ml													0,011

SHS:Somatik Hücre Sayısı; KM: Kuru madde; YKM: Yağsız Kuru Madde; TP: Total Protein; G6PD:Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz; NADPH:Redükte nikotinamid adenin dinükleotid; rGSH:Redükte Glutatyon; GPx: Glutatyon Peroksidaz \*P&lt;0.05. \*\*P&lt;0.01.

Süt protein (%) düzeyleri ile süt yağ düzeyleri (%) arasında pozitif korelasyon ( $r=0.506$ ,  $P<0.05$ ) belirlendi. Süt protein düzeyleri (%) ile süt kazein düzeyleri (%) ( $r=0.907$ ,  $P<0.01$ ) ve süt yağsız kuru madde düzeyleri (%) ( $r=0.816$ ,  $P<0.01$ ) arasında yüksek pozitif korelasyonlar belirlendi. Süt yağsız kuru madde (%) düzeyleri ile süt laktoz (%) düzeyleri ve süt kazein (%) düzeyleri arasında ( $r=0.805$ ,  $P<0.01$ ) pozitif korelasyon belirlendi ( $r=0.805$ ,  $P<0.01$ ). Süt hücre G6PD aktivitesi ile süt laktoz (%) düzeyleri ( $r=-0.574$ ,  $P<0.05$ ) arasında negatif korelasyon, süt hücre G6PD aktivitesi ile süt somatik hücre sayısı ( $r=0.708$ ,  $P<0.01$ ) ve süt hücre NADPH düzeyleri ( $r=0.609$ ,  $P<0.01$ ) arasında ise pozitif korelasyonlar belirlendi. Süt hücre NADPH düzeyleri ile süt laktoz (%) düzeyleri ( $r=-0.485$ ,  $P<0.05$ ) arasında negatif korelasyon belirlendi (Tablo 3).

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde rutin olarak süt kalite kriterlerinin belirlenmesinde duyuşal olarak; sütte renk, tat, koku, yapı ve görünüş, kimyasal olarak; asitlik, alkol ve kaynama testi, kuru madde, laktoz ve yağ miktarı, ayrıca donma noktası gibi parametreler belirlenmektedir. Yapılan literatür taramalarında, süt ile ilgili biyokimyasal çalışmalar daha çok mastitis olguları (18-23) üzerinde yoğunlaşmıştır. Sunulan çalışma ile sütün bileşiminde bulunan kalite parametreleri ile pentoz fosfat yolağının ilk ve hız belirleyici basamağında bulunan G6PD enzimi ve ilgili parametreler arasındaki ilişkilerin varlığı araştırılmış olup, olası ilişkiler yorumlanmaya çalışılmıştır.

Genel olarak sütte protein, yağ, laktoz gibi temel kimyasal bileşenler büyük miktarda yer alır. Ancak küçük miktardaki bileşenlerin de sütün özelliklerine katkısı büyüktür. Sütte bulunan önemli bileşenler; laktoz, süt yağı, kazein, laktoalbümin ve laktoglobülinidir. Sunulan çalışmada sütteki kuru madde  $9.01\pm 0.38$ , yağ  $2.071\pm 0.37$ , laktoz  $4.78\pm 0.06$  ve protein  $3.50\pm 0.04$  düzeylerinde bulunmuştur. İnek sütünün kuru maddesinin  $10.5-14.5$  olduğu, bu oranın  $2.5-6.0$ 'sının yağ,  $3.6-5.5$ 'unun laktoz,  $2.9-5.0$ 'ünün protein ve  $0.6-$

$0.9$ 'unun mineral madde şeklinde olduğu bildirilmektedir (1). Sunulan çalışmada elde edilen süt kalite parametrelerinden kuru madde ve yağ düzeylerinin, literatürde belirtilen değerlerden biraz düşük olduğu belirlenmiştir.

İnek sütünün yaklaşık  $3-3.5$ 'i proteindir ve yüksek kaliteli protein olarak kabul edilir. İnek sütü proteini, peynir altı suyu proteinleri ve kazeinin yanı sıra, enzimler ve az miktarda protein olmayan azotlu bileşiklerden oluşur. Total proteinin yaklaşık  $80$ 'i kazein ( $8$ 'i inorganik maddeler,  $92$ 'si proteindir),  $20$ 'si ise peynir altı suyu proteininden oluşmaktadır (24). Sunulan çalışmada Holstein ırkı ineklerden elde edilen süt total protein düzeyleri ( $3.5$ ) literatürde bildirilen düzeyler ile uyumludur.

Meme dokusunda sentezlenen laktoz, sütün temel karbonhidratıdır; glukoz ve galaktozdan oluşan bir disakkarittir (25). Meme alveol hücresine kan yolu ile gelen glukoz, UDP-galaktoza izomerize edilir ve dört aşamalı enzimatik bir reaksiyon ile laktoz sentezi gerçekleştirilir (26). Katkısız inek sütü ortalama  $5$  laktoz içermektedir (27). Süt, az miktarda da glukoz, galaktoz ve oligosakkarit içermektedir (4, 25). Laktoz, Na, K ve Cl gibi iyonlarla birlikte sütün ozmotik basıncını sağlamaktadır; sütün ozmotik basıncı kan ile izoozmotiktir ve ozmotik basıncın düştüğü veya yükseldiği durumlarda laktoz sentez oranı değiştiğinden, laktoz sentezinin kontrol altında tutulduğu düşünülmektedir (26). Holstein ırkı inek sütünde yağsız kuru madde oranları  $8.95 - 10.31$  bildirilmekte (28) ve bu bulgular, çalışmada elde edilen bulgular ile uyum göstermektedir. Sütte, yağ dışında kalan kuru maddenin  $54$ 'ünü laktoz oluşturmaktadır (25). Sunulan çalışmada da laktoz düzeyleri ile yağsız kuru madde düzeyleri arasında yüksek pozitif bir korelasyon belirlenmiştir. Çalışmada laktoz ile G6PD ve NADPH düzeyleri arasında belirlenen negatif korelasyonu açıklamak için yeterli literatür bilgiye rastlanılmamıştır. Süt laktozu, süt ozmotik basıncı ve bunu oluşturan unsurların G6PD ile ilişkisi üzerine, ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir

Süt somatik hücreleri, meme dokusundan süte karışan epitel hücreleri ve yangı veya travma durumlarında kandan meme bezine geçen lökositlerden oluşmaktadır (7,29). Sağlıklı bir memedeki süte SHS 150.000-200.000 hücre/mL'den az kabul edilmektedir (30-32). Sunulan çalışmada elde edilen SHS düzeyleri, sağlıklı bir memede kabul edilen süt değerleri ve tüketime sunulan sütlerde bulunması gereken değerler ile uyumlu görülmektedir. Sunulan çalışmada SHS ile pentoz fosfat yolunun hız belirleyici enzimi olan, G6PD aktivitesi arasında yüksek pozitif korelasyon belirlenmiş ve bu bulgular Ritter ve ark. (33)'in bulguları ile uyumlu bulunmuştur.

Pentoz fosfat yolağında G6PD ve 6PGD tarafından üretilen NADPH+H<sup>+</sup>, indirgeyici bir moleküldür ve G6PD eksikliğinde, NADPH+H<sup>+</sup> düzeyi önemli oranda azalır (34). Sunulan çalışmada, literatür bilgisiyle (33) uyumlu olarak, NADPH düzeyleri ile G6PD aktivitesi arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir. NADPH+H<sup>+</sup>'in eritrositlerdeki en önemli rolünün GSSG'nun rGSH'ya indirgenmesini sağlamak olduğu bildirilse de (35,36), sunulan çalışmada, rGSH düzeyleri ve ayrıca GPx aktivitesi ile NADPH arasında bir bağıntı belirlenmemiştir. Bu durum, süt somatik hücrelerinde, rGSH ve GPx aktivitesinin, başka mekanizmalar ile ilişkili olduğunu, bu parametrelerin, direkt olarak NADPH ve G6PD bağımlı parametreler olmadığını düşündürmektedir; süt somatik hücreleri, kandan süte geçmiş lökositler ve meme bezi epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Lökositlerde fagositik mekanizma ön planda olup süperoksit radikali üretimi fagositik aktivite için önemlidir (37). Süperoksit radikalini üreten enzim, NADPH-oksidad; neredeyse tüm hücrelerde bulunur ve NADPH'ı kullanır (38). Süperoksit radikali, süperoksit dismutaz tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dönüştürülür. Glutatyon peroksidaz, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i moleküler oksijen ve suya dönüştürdüğünden, süperoksit dismutazdan ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formasyonundan bağımsız olarak işlev görmez (12). Ayrıca, hücrede rGSH'nın GSSG'ye dönüşümünde GPx'in yanısıra peroksidoksinler (Prdx 6) de görev almaktadır (39). GSSG'den tekrar

rGSH oluşumunda ise GR görev alır; GR, NADPH ve askorbik asiti kullanarak rGSH oluşumunu sağlayabilmektedir (40). Hamster V-79 hücre hattında, kromat tarafından aktivitesi inhibe edilen GR üzerine vitamin C'nin olumlu etkisi bildirilmiştir (41). GSH/GSSG redox çifti ile askorbik asit/dehidro askorbik asit çifti arasında bağıntı bulunmaktadır; rGSH, dehidroaskorbik asiti askorbik asite indirger, diğer yandan bu reaksiyon tersi şekilde de cereyan edebilmekte ve askorbik asit, GSSG'yi rGSH'ya indirgemektedir (42). Malonat ile muamele edilmiş hücrelerde askorbik asit, rGSH'ın azalmasını engellerken, GSSG/GSH oranının düzenlenmesini sağlamıştır (43).

Çalışmada, NADPH ile SHS arasında belirlenen pozitif korelasyon da, G6PD ile SHS arasında belirlenen korelasyonu desteklemektedir.

Sonuç olarak, sunulan çalışma ile süt SHS ile G6PD aktivitesi ve NADPH düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar belirlenmiştir. Ayrıca, sağlıklı inek sütünde süt verimi ve süt kalite parametreleri ile G6PD aktivitesi arasında, laktoz düzeyleri dışında, belirgin bir korelasyon belirlenmemiştir. Laktoz ile G6PD aktivitesi arasındaki bu ilişkinin, sütün ozmotik basıncı ile birlikte, detaylı bir şekilde araştırılması önerilmektedir.

#### Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

#### KAYNAKLAR

1. Gürsoy A., 2015. Süt teknolojisi ve süt biyokimyası. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara, Türkiye.
2. Suriyasathaporn W., Vinitketkumnuen U., Chewonarin T., Boonyayatra S., Kreasukon K., Schukkenc YH., 2006. Higher somatic cell counts resulted in higher malondialdehyde concentrations in raw cows' milk. *Int Dairy J*, 16, 1088-1091.
3. Taghdiri M., Karim Guiti., Safi S., Foroushani AR., Motalebi A., 2018. Study on the accuracy of milk amyloid A test and other diagnostic methods for

- identification of milk quality. *Vet Res Forum*, 9, 179-185.
4. Li L., Liu X., Guo H., 2018. The nutritional ingredients and antioxidant activity of donkey milk and donkey milk powder. *Food Sci Biotechnol*, 27, 393-400.
  5. Hanus O., Samkova E., Krizova L., Hasonova L., Kala R., 2018. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability-a review. *Molecules*, 4, 23.
  6. Demirci M., 2011. Laktozun insan beslenmesindeki önemi. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg*, 15, 109-116.
  7. Alhussien MN., Dang AK., 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Vet World*, 11, 562-577.
  8. Andrei S., Matei S., Rugina D., Bogdan L., C. Ştefanut C., 2016. Interrelationships between the content of oxidative markers, antioxidative status, and somatic cell count in cow's milk. *Czech J Anim Sci*, 61, 407-413.
  9. Persigo MG., Viglietto G., Martini G., 1986. Isolation of human glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) cDNA clones, primary structure of the protein and unusual 5 noncoding region. *Nucleic Acids Res*, 14, 2511-2522.
  10. Rovira A., De Angioletti M., Camacho-Vanegas O., 2000. Stable in vivo expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and rescue of G6PD deficiency in stem cells by gene transfer. *Blood*, 96, 4111-4117.
  11. Ramos VA., Ramos PA., Dominguez MC., 2000. The role of oxidative stress in inflammation in patients with juvenil rheumatoid arthritis. *J Pediatr*, 76, 125-132.
  12. Akkuş İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimosa Yayınları*, Konya, Türkiye.
  13. Beutler E., 1994. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood*, 84, 3613-3636.
  14. Akalin PP., Bucak MN., Gungor S., Baspınar N., Cayan K., Ili P., Dursun S., Aksoy A., Karasor ÖF., Bilgili A., Sariözkan S., Yeni D., 2016. Influence of lycopene and cysteamine on sperm and oxidative stress parameters during liquid storage of ram semen at 5 °C. *Small Rum Res*, 137, 117-123.
  15. Ellman G., 1959. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82, 70-77.
  16. Beutler E., 1984. *Red Cell Metabolism, Manual of Biochemical Methods*, 3<sup>rd</sup> Ed., 3, 257-363, Grune Stratton, Inc., Orlando.
  17. Bradford MM., 1976. A rapid and sensitive method quantitation or microgram quantities of protcin utilizing the principle of protein die binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
  18. Kandeel SA., Megahed AA., Ebeid MH., Constable PD., 2019. Ability of milk pH to predict subclinical mastitis and intramammary infection in quarters from lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*, 102, 1417-1427.
  19. Kandeel SA., Megahed AA., Ebeid MH., Constable PD., 2019. Evaluation of 3 esterase tests for the diagnosis of subclinical mastitis at dry-off and freshening in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 102, 1402-1416.
  20. Weiss WPJ., Hogan S., Smith KL., 2004. Changes in vitamin C concentrations in plasma and milk from dairy cows after an intramammary infusion of *Escherichia coli*. *J Dairy Sci*, 87, 32-37.
  21. Pang M., Xie X., Bao H., Sun L., He T., Zhao H., Zhou Y., Zhang L., Zhang H., Wei R., Xie K., Wang R., 2018. Insights into the bovine milk microbiota in dairy farms with different incidence rates of subclinical mastitis. *Front Microbiol*, 9, 1-13.
  22. Erişir M., Kandemir FM., Yüksel M., 2011. The effect of subclinical mastitis on MDA, GSH levels and GSH-Px, CAT activities in milk of cows. *Firat Uni Sagl Bil Vet Derg*, 25, 67-70.
  23. Szczubial M., Dabrowski R., Kankofer M., Komar MM., 2012. Concentration of serum amyloid A and ceruloplasmin activity in milk from cows with subclinical mastitis caused by different

- pathogens. *Pol J Vet Sci*, 15, 291-296.
24. Fox PF., McSweeney PLH., 2003. *Advanced Dairy Chemistry*. Vol 1, In Chapter 1: Milk Proteins: General and Historical Aspects, Third Edition, Part A, Springer Verlag Publish, New York.
  25. Gehardt SE., Thomas RG., 2006. *Nutritive Value of Foods*, United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service, Home and Garden Bulletin, 72.
  26. Fox PF., McSweeney PLH., 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, Blackie Academic & Professional, an imprint of Chapman & Hall, London.
  27. Heine RG., AlRefaee F., Bachina P., De Leon JC., Geng L., Gong S., Madrazo JA., Ngamphaiboon J., Ong C., Rogacion JM., 2017. Lactose intolerance and gastrointestinal cow's milk allergy in infants and children- common misconceptions revisited. *World Allergy Organ J*, 10,41.
  28. Kasımoğlu A., Akgün S., 1998. Laktasyon periyodu boyunca inek sütünün miktar ve bazı bileşimlerinde görülen değişimler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 295-304.
  29. Sharma N., Maiti SK., Sharma KK., 2007. Prevalence, etiology and antibiogram of microorganisms associated with Sub-clinical mastitis in buffaloes in Durg Chhattisgarh State (India). *Int J Dairy Sci*, 2, 145-151.
  30. Baştan A., Kaymaz M., Fındık M., Erünel N., 1997. İneklerde subklinik mastitislerin elektriksel iletkenlik, somatik hücre sayısı ve California mastitis test ile saptanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 44, 1-6.
  31. Alaçam E., 1998. Meme Hastalıkları. *Siğır Hastalıkları*. Ed: E Alaçam, M Şahal, 389-425, Medisan yayınları, Ankara, Türkiye.
  32. Baştan A., 2010. Düve mastitisleri ineklerde meme sağlığı ve sorunları. *Kardelen Ofset Matbaacılık*, Ankara, Türkiye. 28-231.
  33. Ritter C., Conti A., Morse GE., 1977. Hexose shunt dehydrogenase activity in leukocytes isolated from bovine milk. *J Dairy Sci*, 60, 1987-1990.
  34. Krebs HA., Eggleston LV., 1978. The regulation of the pentose phosphate cycle in rat liver. In: *Adv enzyme regul.* Ed: G Weber, 12: 421-33, Pergamon Press Ltd, Oxford.
  35. Reuter R., Naumann M., Metz P., Kopperschlager G., 1990. Purification and characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Pseudomonas W6*, *Biomed Biochem Acta*, 7, 539-546.
  36. Keha E., Kührevioğlu Ö., 1997. *Biyokimya*. Şafak Yayınevi, Erzurum, Türkiye.
  37. Forman HJ., Thomas MJ., 1986. Oxidant production and bactericidal activity of phagocytes. *Annu Rev Physiol*, 48, 669-680.
  38. Vignais PV., 2002. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci*, 59, 1428-1459.
  39. Ralat LA., Manevich Y., Fisher AB., Colman RF., 2006. Direct evidence for the formation of a complex between 1-cysteine peroxiredoxin and glutathione S-transferase pi with activity changes in both enzymes. *Biochem*, 45, 360-372.
  40. Carlberg I., Mannervik B., 1985. Glutathione reductase. *Meth Enzymol*, 113, 485-490.
  41. Sugiyama M., Tsuzuki K., Ogura R., 1991. Effect of ascorbic acid on DNA damage, cytotoxicity, glutathione reductase, and formation of paramagnetic chromium in Chinese Hamster V-79 Cells treated with sodium chromate (VI). *J Biol Chem*, 266, 3383-3366.
  42. Foyer CH., Halliwell B., 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133, 21-25.
  43. Ehrhart J., Zeevalk GD., 2003. Cooperative interaction between ascorbate and glutathione during mitochondrial impairment in mesencephalic cultures. *J Neurochem*, 86, 1487-1497.