

## Farklı Irk Koyunlarda Serum Protein Düzeylerinin Elektroforez ile Saptanması

Nihat MERT<sup>1</sup> Handan GÜNDÜZ<sup>1</sup> Suat EKİN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Bursa.

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van.

**Özet:**Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü'nde bulunan farklı ırktaki ithal koyunların serum protein elektroforetik fraksiyonlarını, serum total protein ve albumin düzeylerini saptamak için bu çalışma düzenlenmiştir. Dorset, Lincoln, Hampshire, Siyah Baş Alman, Border ırkı koyunlardan her ırktan 15 tane, toplam 75 adet, kan örnekleri vena jugularisten alınıp, serumları çıkarıldı. Serumlarda jel elektroforezi ile albumin,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ -globulin fraksiyonları ayrıldı, miktar tayinleri yapıldı. Ayrıca spektrofotometrik olarak total protein ve albumin düzeyleri saptandı. Irklara göre değerlerin ortalamaları hesaplanıp, incelenen tüm veriler tablo halinde sunuldu.

**Anahtar Kelimeler:** Koyun, Kan, A/G, Elektroforez, Total Protein

### Serum Protein Levels Determination in Different Breed of Sheep by Electrophoresis

**Summary:** This study was designed to elucidate the electrophoretic pattern and the amount of protein and albumin of five different breeds of imported sheep in Bandırma State Sheep Breeding Research Farm. These were Dorset, Lincoln, Hampshire, German Black Face and Border. Fifteen sheep from each breed, totally 75, were chosen and blood were taken from vena Jugularis to plastic tubes. Sera were collected and electrophoretically analyzed for protein fractions (albumin,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -globulin). Total protein and albumin levels were also determined by spectrophotometrically. Average values were estimated and tabulated according to breed.

**Key Words:** Sheep, Blood, A/G, Electrophoresis, Total Protein

### Giriş

Kandaki azotlu maddeler, organik ve inorganik N içeren bileşiklerden oluşmuştur. Bunların içinde proteinler önemli yer tutarlar. Farklı köktürme teknikleri ile kanda albumin, globulin, fibrinojen gibi proteinler saptanırken, elektroforetik tekniklerinin gelişmesiyle 20'den fazla protein ortaya çıkarılmıştır. Böylelikle proteinlerin yapıları, hastalıklarla ilişkileri açıklanmıştır.

Normal bir serum elektroforezi sonucunda albumin (Alb),  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ -globulinden oluşmuş dört temel fraksiyon elde edilmiştir. Kaneko (3) sellüloz asetat elektroforezi ile normal kedi ve köpekte Alb,  $\alpha_1$ - $\alpha_2$ - $\beta_1$ - $\beta_2$ - $\gamma_1$ - $\gamma_2$ , at'ta Alb,  $\alpha_1$ - $\alpha_2$ - $\beta_1$ - $\beta_2$ - $\gamma$ , keçi ve koyunda Alb,  $\alpha_1$ - $\beta_1$ - $\beta_2$ - $\gamma$ , sığırdada Alb,  $\alpha_1$ - $\alpha_2$ - $\beta$ - $\gamma$  fraksiyonlarının bulunduğunu bildirmiştir. Koyunlarda Alb,  $\alpha_1$ - $\alpha_2$ - $\beta_1$ - $\beta_2$ - $\gamma_1$ - $\gamma_2$  fraksiyonlarının bulunduğu (5), bir diğer çalışmada ise Alb,  $\alpha_1$ - $\alpha_2$ - $\beta$ - $\gamma_1$ - $\gamma_2$  banlarının varlığı gösterilmiştir (4).  $\alpha$ -globulinleri proteinleri arasında h

heptaglobulin, transkörtin,  $\alpha$ -lipoproteinler,  $\beta$ -globulinleri transferrin, komplemant  $\beta$ -lipoproteinler, bazı immunoglobulinler, fibrinojen,  $\gamma$ -globulinleri ise immunoglobulinler oluşturmaktadır. Elektroforez sonucunda elde edilen bantların sayı ve yoğunluğunun değişmesi teşhiste çok yardımcı olmaktadır (2).

Koyunlarda normal total protein düzeyi % 6-7.9 gr iken albumin % 2.4-3.0 gr, globulin % 3.5-5.7 gr olarak bildirilmiştir.

Klinik biyokimyada serum proteini elektroforezi ile total protein, albumin oranı veya son yıllarda yaygınca kullanılan albumin : globulin oranı hesapları önem kazanmıştır. Farklı hayvanlarda A / G oranı 0.5 - 1.3 arasında iken (6) koyunlarda 0.95 - 1.0 arasında olduğu bildirilmiştir (3).

Sunulan çalışma ile farklı ırktaki etçi koyunların serum protein profili çıkarılmış, elektroforetik fraksiyonlar saptanmış ve klinik yoruma yardımcı olması hedeflenmiştir.

### Materyal ve Metod

Yerli merinos ırkın genetik gücünü artırmak için ithal edilen 5 farklı koyun ırkı (Dorset, Lincoln,

Hampshire, Siyah Baş Alman ve Border) araştırmada canlı materyal olarak kullanıldı. Her ırktan aynı yaş grubundan onbeşer adet koyun seçildi. Kanları vena jugularisten plastik tüplere alındı. Serumları çıkartıldı. Analizler serumlar dondurulmadan gerçek-leştirildi.

Protein elektroforezi için Rep Rapid Electrophoresis cihazı (Helena Laboratories) kullanıldı. 75 µl serum örnekleri 16 numunelik hazır Rep-Prep jeli üzerine yerleştirildi. 18 dakikalık elektroforez işlemi takiben oluşan protein fraksiyonları Ponceu S boyası ile boyandı. Destain olarak 5 : 5 : 1 oranında metanol : su : asetik asit solusyonu kullanıldı. Görünen bantların yine aynı alet üzerindeki scanner ile yoğunlukları ve otomatik miktar tayinleri yapıldı.

Serumda total protein ve albumin düzeyleri ise hazır ticari kitler yardımıyla spektrofotometrik olarak saptandı. Total protein ve albumin için Biosystem COD-1500 kitleri kullanıldı. Elde edilen tüm veriler ırklara göre gruplandırıldı. Ortalama değerleri alınıp tablo halinde sunuldu. İthal ırklarda temel değerleri ortaya çıkarmak hedeflendiği için ileriye doğru istatistiksel analizler yapılmadı.

### Bulgular

Beş farklı ırka ait serum örneklerinde total protein, albumin, Albumin / Globulin oranları elektroforetik ve spektrofotometrik olarak bulundu. Tablo I'de elektroforetik protein fraksiyonları, Tablo II'de ise kimyasal metotla yapılan analiz sonuçları gösterilmiştir.

Tablo I :Elektroforetik olarak farklı koyun ırklarının protein düzeyleri.

	Dorset* X±Sx	Lincoln* X±Sx	Hampshire* X±Sx	Siyah Baş* Alman X±Sx	Border* X±Sx
Albumin (% gr)	2.60 ± 0.08	2.41 ± 0.07	2.24 ± 0.10	2.70 ± 0.10	2.11 ± 0.14
α <sub>1</sub> -globulin (% gr)	0.33 ± 0.06	0.91 ± 0.18	0.84 ± 0.13	0.64 ± 0.19	0.65 ± 0.11
α <sub>2</sub> -globulin (% gr)	1.64 ± 0.31	1.26 ± 0.11	0.79 ± 0.12	1.18 ± 0.19	0.87 ± 0.12
β-globulin (% gr)	0.68 ± 0.08	1.10 ± 0.31	0.68 ± 0.08	1.68 ± 0.53	0.56 ± 0.08
γ-globulin (% gr)	3.19 ± 0.15	2.80 ± 0.66	2.43 ± 0.22	2.17 ±0.58	2.43 ± 0.27
Total Protein (% gr)	8.44	8.48	6.98	8.37	6.62
Total globulin (% gr)	5.84	6.07	4.74	5.67	4.51
A / G	0.445	0.397	0.472	0.476	0.468

n=15

Tablo 2: Spektrofotometrik olarak farklı koyun ırklarının protein düzeyleri

	Dorset* X±Sx	Lincoln* X±Sx	Hampshire* X±Sx	Siyah Baş* Alman X±Sx	Border* X±Sx
Total Protein (% gr)	8.93 ± 0.2	8.19 ± 0.31	8.61 ± 0.23	7.87 ± 0.22	8.20 ± 0.23
Albumin (% gr)	4.38 ± 0.4	3.53 ± 0.13	4.81 ± 0.20	3.61 ± 0.16	4.34 ± 0.33
Total Globulin (% gr)	4.35	3.66	3.80	4.19	3.86
A / G	1.007	0.965	1.265	0.878	1.124

n=15

Tablo I ve II'de görülen total globulin, total proteinden Albuminin çıkartılmasıyla elde edilmiştir. Spektrofotometrik yolla yapılan analizlerde biraz daha yüksek değerler saptanmış, daha yüksek A / G oranı hesaplanmıştır.

### Tartışma ve Sonuç

Koyunlarda serum protein elektroforezi neticesinde, hayvanın fizyolojik fraksiyonuna da bağlı olmak üzere farklı protein fraksiyonları bildirilmiştir. Klos-Yu (5). gebe olmayan, gebe ve laktasyondaki hayvanlarda yaptığı çalışmada temelde Alb, α<sub>1</sub>- α<sub>2</sub> - β<sub>1</sub> - β<sub>2</sub> - γ<sub>1</sub> - γ<sub>2</sub> fraksiyonlarının varlığına işaret etmiştir. Total protein düzeyinin gebe olmayanlarda % 7.67 gr. gebe ve sağmal olanlarda biraz daha düşük olduğunu göstermiştir. Yine aynı araştırmacı 90 günlük gebelikte albumin düzeyinin de çok düşük olduğunu, α<sub>1</sub>-globulinin gebelik ve laktasyonda arttığını, α<sub>2</sub>-globulinin kuzulama anında en yüksek olduğunu, β<sub>1</sub> globulinin gebelikte % 70'e varan oranda azaldığını, β<sub>2</sub>-globulinin gebelikte artıp laktasyonda düştüğünü, γ<sub>1</sub>-globulinin gebelikte artıp, doğum ve laktasyonda azaldığını, γ<sub>2</sub> - globulinin ise kuzulama ve laktasyonun birinci ayında gebe olmayanlara göre daha düşük olduğunu bildirmiştir. Fizyolojik durumun hayvanın protein kalıbını etkilediğini göstermiştir.

Keay ve ark (4) agar jel elektroforezi ile İskoç Siyah Baş X Cheviot, Border Leicester X Cheviot koyunları ile, Border Leicester X Cheviot X suffolk melezi kuzularının ayrı gruplar altında serum protein elektroforezis değerlerini saptamışlar. Araştırmacıların bulgularına göre sırasıyla koyunlarda total protein düzeylerini % 8.14-7.79 gr. albumini % 3.8-3.88 gr. γ<sub>1</sub>- globulin % 0.419 - 0.63 gr. γ<sub>2</sub> - globulin % 1.14-

1.28 gr.  $\beta$  - globulin % 0.75-0.80 gr,  $\gamma_1$ -globulin % 2.91-2.89 gr,  $\gamma_2$ -globulin % 0.64- 0.71 gr bulunurken, kuzularda ise yeni doğmuş 1-3 haftalık ve 9 haftalık yaşta total protein Sırasıyla % 7.61 – 6.14 – 6.39 gr, albumini % 3.62 – 4.61 – 5.03 gr globulinleri ise total ifadeyle % 6.4 – 5.36 – 5.98 gr olarak bildirmişlerdir.

Sunulan çalışmada incelenen ırklarda protein elektroforezi fraksiyonları albumin,  $\alpha_1$ -  $\alpha_2$  -  $\beta$  -  $\gamma_1$  -  $\gamma_2$  fraksiyonlarından oluşmuştur.  $\gamma_1$  ve  $\gamma_2$  globulinleri bir değer altında ifade edilmiştir. Elektroforetik ve spektrofotometrik olarak saptanan total protein düzeylerinin karşılaştırılmaları yapıldığında değerlerin Hampshire ve Border hariç birbirine yakın olduğu görülmektedir (Tabl I ve II ). Bahsedilen ırklarda  $\alpha_2$  ve  $\beta$ -globulin düzeylerinin diğerlerine göre düşük olması total proteinde spektrofotometrik metoda göre daha da az değere ulaşmaya neden olmuştur.

Kaneko (3) normal koyun ve keçilerde Albumin/Globulin oranını iki ayrı değerde bildirmiştir. Bunların ilki 0.95/1.06 = 0.95 değerinde iken sınır biraz daha geniş tutularak 0.42 – 0.76 arasında gösterilmiştir. İki farklı yolla yapılan Albumin/Globulin oranı hesaplamalarında elektroforetik olarak 0.397 – 0.476 arasında bir değer saptanırken spektrofotometrik yolla bulunan değer biraz daha yüksek (0.878 – 1.265) olarak hesaplanmıştır. Spektrofotometrik yol ile hesaplamada saptanan total protein düzeyinden yine ölçülen albumin değeri çıkarılmıştır. Globulin ölçümü yapılması matematiksel bir fark olarak bulunmuştur.

Elektroforetik olarak elde edilen A / G oranı literatürdeki A / G oranının alt değerine uymakta, kimyasal yolla ise Kaneko'nun (3) ilk bildirdiği 0.95'lik değere biraz fazlaca da olsa uyum görülmektedir.

Bu sonuçlar ile beş farklı ırka ait etçi koyunlarda serum proteinleri detaylı olarak incelenmiş, elektroforetik fraksiyonları çıkarılmış A / G oranları ile Veteriner Klinik biyokimyasal değerlendirmelere referans olarak sunulmuştur

#### Kaynaklar

**1-Altıntaş, A., Fidancı, U. R.(1993):** Evcil hayvanlarda ve insanlarda Kanın Biyokimyasal Normal Değerleri. A. Ü. Vet. Fak. Derg. 40 (2),173-186.

**2-Coles, E. H.(1986)** Veterinary Clinical Pathology 4<sup>th</sup> Edition W. B. Saunders Co Philadelphia, 146-240.

**3-Kaneko, J. J. (1980)** Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 3<sup>rd</sup> Edition Academic Press, London.

**4-Keay, G., Doxey, D.L. (1984):** Serum Protein Values from Healthy Ewes and Lambs of Various Ages Determined by Agarose Gel Electrophoresis. British Vet. J. 140 (1), 85-88.

**5-Klos-Yu, S.(1990):** Changes in Total Protein and Protein Fractions in Blood Serum of Non-pregnant, Pregnant and Lactating Ewes. Sel'skokhozyaistvennaye-Biologiya, 4, 48-51.

**6-Mert, N. (1996):** Veteriner Klinik Biyokimya. U.Ü. Güçlendirme Vakfı Yayını. No. 12.Bursa.