

İDRARDA BULUNAN PÜRİN DERİVATLARININ MİKROBİYEL PROTEİN KATKISI VE YEM TÜKETİMİNİN ÖLÇÜMÜNDE KULLANIMI

Şule Kaya¹

The Use of Urinary Purine Derivatives to Estimate Microbial Protein Supply and Feed Intake

Summary: The urinary excretion of allantoin was first suggested as an index of rumen microbial protein yield about 30 years ago. Major progress towards establishing a method to relate purine derivatives excretion to microbial protein yield has only been made in recent years. So that, the biochemistry of the purines, the factors effecting the amount of purine derivatives excreted in the urine and the different approaches to estimate recovery of these derivatives originating from different sources has been explained in order to guide for who is interested in this subject.

Key Words : Purine derivatives, microbial protein, rumen

Özet: Yaklaşık 30 yıl önce, idrarla atılan allantoinin rumendeki mikrobiyel protein üretiminin bir göstergesi olduğu ilk kez ileri sürüldü. Ancak pürin derivatlarının atılımı ile mikrobiyel protein üretimine ilişkin bir metot ortaya koymaya yönelik büyük gelişmeler son yıllarda kaydedildi. Bu nedenle bu konuyla ilgilenenleri aydınlatmak amacıyla, pürinlerin biyokimyası, idrarla atılan pürin derivatlarının miktarını etkileyen faktörler, değişik kaynaklardan orijin geri alınımını tespit etmek için kullanılan farklı yaklaşımlar açıklandı.

Anahtar Kelimeler: Pürin derivatları, mikrobiyel protein, rumen

Giriş

Hayvan ve bitki hücrelerinin temel yapılarından olan pürin ve pirimidinler değişik bileşimlerde bulunurlar. ATP gibi bileşimleri çabuk değişime uğrayabilirlerken, DNA gibi bileşimlerin kararlı olması dikkat çekicidir. Pürin biyokimyasında pürin bazını oluşturan en önemli yapı, riboz yada deoksiriboz ve fosforik asitten oluşan nükleoliddir. Önemli pürin bazları adenin, guanin, hipoksantin ve ksantin'dir. Bu yapıların ribozlarının, metabolizmada meydana geldiği bilinmektedir. Adenin ve guanin genelde memelilerin dokularında bulunmazlar. Fakat serbest ksantin ve hipoksantin pürinlerin yıkımındaki ara maddelerdir. Ürik asit bir divalent asittir fakat pH 7 civarında monobazik tuzların olduğu ikinci ayrılma sabitesi çok küçüktür (Zöllner, 1982).

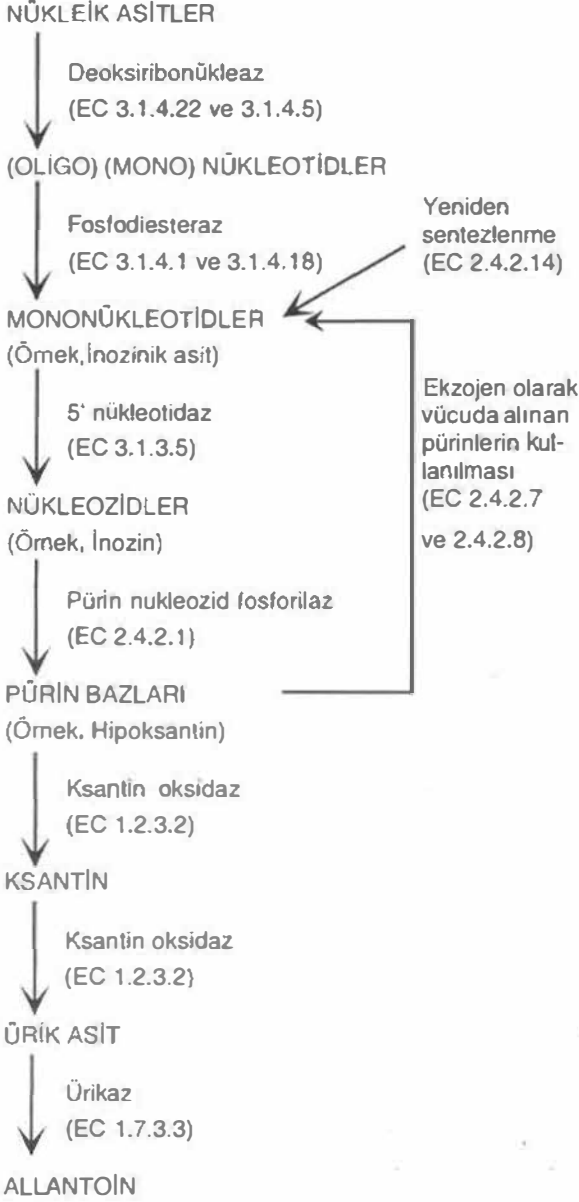
Nükleik asitlerin metabolizması, nükleotidlerin devamlı olarak nükleozid ve serbest bazlara yıkıldığı substrat siklusunu içerir. Oluşan nükleozid ve bazlar yeni nükleotidlerini sentezlenmesi için daha sonra da kullanılırlar.

Pürinlerin Hücre İçerisine Alınması

Hücrelerin ihtiyaçlarını karşıladıkları pürin kaynakları arasında bir denge kurulmuştur. Bu kaynakların ilki, mikrobiyel veya gıda kökenli ekzojen olarak vücuda alınan pürinler, diğeri ise yeniden sentezlenen pürinlerdir.

Pürinler yeniden sentezlenirken ; amonyak, aspartik asit ve glisin gibi çok basit ön maddeleri kullanırlar ve bu dokuların pürinler için spesifik ihtiyaçları olmadığı anlamına gelirse de, bu işlem oldukça fazla enerji gerektirmektedir. Mura ve ark. (1987), 1 mol pürin haikası için 5 mol ATP'nin kullanıldığını ileri sürmektedirler. Bütün pürinlerin yeniden sentezi, hipoksantin nükleotidi olan inozinik asit yoluyla meydana gelir. Bu metabolik yolun ilk adımı, glutaminin β - fosforibosilamin oluşturmak için fosforibosil-1-pirofosfat (PRPP) ile reaksiyona girmesidir. Nükleik asitler ve onların pürin bazları için enzimatik yıkımlar ve metabolik yollar Şekil 1'de gösterilmektedir (Greife,1984).

Şekil 1. Nükleik asit (pürin) sentezi, katabolizması ve ekzojen olarak vücuda alınan pürinlerin kullanılmasının biyokimyasal yolları.



İdrarda Bulunan Pürin Derivatlarının Mikrobiyel Protein Senteziyle Olan İlişkisi

Mikrobiyel proteinin ruminanta olan katkısı sadece tüketilen yemin miktarı ile tespit edilir, fakat rumenin dolması ile ilişkili olan yemin fiziksel yapısı (hacim ve büyüklük) da bunu etkilemektedir. Alınan yemin miktarının azlığına bağlı olarak az miktarda digestanın geçişiyle sonuçlanan beslenme durumlarında (özellikle ruminal yıkımlanması fazla olan yemler verildiğinde) kaba yem ilavesiyle alınan miktarın artırılması mikrobiyel protein akışını artırır. (Chen ve ark. 1992a) Ruminantlarda protein kullanımının etkililiğinin, rumen mikroorganizmalarının katabolik ve sentetik aktivitelerine bağlı olduğu bilinmektedir. Etkililiğin fazla olması için rasyon proteini ve diğer nitrojen bileşiklerinin yıkılım ürünlerinin, rumende mikrobiyel proteine dönüşümlerinin hızlı olması gereklidir.

Pürin derivatları (PD) çoğunlukla rumende sentezlenen mikrobiyel yapılardan köken alırlar ve yem tüketim miktarını belirleyici bir niteliğe sahiptirler. Ayrıca PD atılım düzeyi, ruminantlarda özellikle protein ve enerji metabolizmasına bağlı olarak değişen rumendeki mikrobiyel sentezlenmenin oranını da belirleyebilir (Mayes ve ark. 1995).

Koyun ve sığırlarda ince bağırsaklara gelen nükleik asitlerin nel sindirilebilirliği sırasıyla yaklaşık RNA için % 80-90 ve DNA için % 75-85'dir (McAllan, 1982). Emilen pürinler, pürin katabolizmasının ürünleri olan ve PD olarak tanımlanan hipoksantin, ksantin, ürik asit ve allantoin'e yıkımlanırlar. Yıkılım ürünlerinin temelini allantoin oluşturur. PD ince bağırsaklardan emilen ve doku nükleik asitlerinin dönüşümünden açığa çıkan pürinler olmak üzere iki farklı kaynaktan köken alırlar. Ruminantlarda rumenden bağırsaklara geçen mikrobiyel yapılar ince bağırsaklardan emilen pürin nükleotidlerinin temel kaynağıdır (McAllan ve Smith, 1973). PD idrarla atılırlar ve idrarla atılım mikrobiyel kökenli pürin düzeyleriyle ilişkili olduğundan bağırsaklardan emilen mikrobiyel protein düzeylerinde göstergesidir. İdrardaki PD'ni ölçerek mikrobiyel protein katkısının belirlenmesi temeline dayanan teknik, hayvanların kanülünü gerektiren halihazırda kullanılan yöntemlere alternatif olarak kullanılan basit ve geçerli

Ekzojen olarak vücuda alınan pürinlerin kullanımı, PRPP'nin pürin bazlarıyla direkt reaksiyona girerek hipoksantin fosforibosil transferaz (EC 2.4.2.8) ve adenin fosforibosil transferaz (EC 2.4.2.7) katalizörliğünde guadinilik, inozinik, ksantilik ve adenilik asitlerin oluşumunu içerir (Murray 1971). D'Melto (1982) hipoksantin oluşumuna yön veren ksantin oksidazın faaliyetini inhibe eden allopürinolün pürin salvage enzimlerini stimüle ettiği, feed-back etkisini desteklediğini göstermiştir.

bir tekniktir (Chen ve ark. 1992a). Rumenden gelen nükleik asitlerle, idrarla atılan pürin miktarı arasındaki ilişkiyi tanımlayabilmek için, aşağıdaki durumlar göz önüne alınmalıdır.

Değişik yemleme durumlarında rumen nükleik asitlerinin sindirim ve emiliminin devamlı etkililiği,

Endojen pürinler üzerine gıda pürinlerinin önleyici etkisinin eksikliği,

Endojen pürin sentezi ve depo kaynaklarından kullanma yolları üzerine alınan enerji seviyesinin etkisinin eksikliği,

İdrarla atılan diğer pürin metabolitlerine göre allantoinin oranının devamlılığı (Giesecke ve ark. 1984).

Rasyondaki nükleik asitler rumende fazlasıyla yıkılırlar ve PD atılımına çok az katkıda bulunurlar (McAllan, 1980). İdrardaki PD'larının bazılan direkt olarak hayvanların dokularından orijin alırlar ve toplam atılıma bu endojen katkı mutlaka göz önüne alınmalıdır. Daha önceki bildirimlerde, beslemede yapılan değişikliklerin, örneğin protein (Fujihara ve ark. 1987) yada enerji ilavesi gibi (Giesecke ve ark. 1984), endojen PD'nın atılımı üzerine etkilerinin az olduğu vurgulandı. Bununla birlikte değişik fizyolojik durumlarda ilişkili olarak endojen kayıpların varyasyonları, duedonal ilave ve PD'nın idrarla atılımı arasındaki ilişkiyi tanımlamak amacıyla bu varyasyonların nasıl dikkate alınacağı hakkındaki bilgiler yetersizdir.

Endojen ve Ekzojen Pürinlerin Metabolizması

İdrarla atılan endojen PD'ı doku nükleik asitlerinin dönüşümünden orijin alırlar. Nükleik asitlerin yıkımından açığa çıkan pürin nükleozidleri ve serbest bazların çoğu nükleotidlerin yeniden sentezlenmesi için kullanılırlar. Nükleik asit yıkımının ara ürünlerinin daha etkili kullanılabilirdiği nükleozid ve serbest bazları içeren bir substrat siklusu vardır (Metzler, 1977). Ksantin oksidaz bu siklusta hipoksantini, ksantine ve daha sonra ürikaz varlığında allantoin okside edilebilen ürik aside dönüştürür. Ksantin, hipoksantin-guanin fosforibosil transferaz tarafından ksantin monofosfat oluşturmak için yeniden kullanılabilir, ürik asit ve allantoin tekrar kullanılabilir. Enzimin ksantine karşı affinitesinin az olması nedeniyle bu reaksiyon yavaş olur (Hitchings, 1978).

Bu nedenle ksantin oksidaz muhtemelen idrarda PD'larının kaybını tanımlayan anahtar enzimdir. Plazmanın aktivitesi basitçe diğer dokuların aktivitelerini yansıtmasına rağmen, sığır, koyun, domuz ve insan arasında ekzojen olarak vücuda alınan pürinlerin kullanımındaki farklılıkların çoğu, teorik olarak kandaki ksantin oksidaza atfedilebilir. Sığır, koyun, domuz arasındaki endojen PD'ı atılımının tür farklılıkları atılan derivatların yapılarıyla da tanımlanabilir. Ksantin ve hipoksantin fraksiyonları koyun ve domuzun idrarındaki toplam ekskresyonun kayda değer bir miktarını oluştururlar. Hayvanların plazma ksantin oksidaz aktivitelerindeki farklılıklar nedeniyle, bunlar sığır idrarında pek kayda değer görülmez. Sığır ve domuzların idrardaki allantoinin oranı koyununkinden daha fazladır. Bu üç tür hayvanın kanında ürikaz olmadığı veya sadece iz miktarlarda bulunduğu için ürik asidin allantoin dönüşümü diğer dokularda meydana gelir. Bu nedenle doku ürikazı aktivitesinin sığır ve domuzlarda koyunlardan daha fazla olduğu ortaya çıkmaktadır (Chen ve ark. 1990a).

Ruminantların normal fizyolojik koşullarda endojen PD'nın ölçümü, rumen mikroorganizmalarının katkılarının ortadan kaldırılmasındaki teknik güçlükler nedeniyle engellenmiştir. Endojen atılımı ölçmek için, hayvanlar uzun süre aç tutulmalarına rağmen, hayvanların metabolik aktiviteleri ya da doku nükleik asitlerinin yıkılma oranları ve buna bağlı olarak pürin son ürünlerinin atılımının beslemedeki sınırlamayla değişebileceği ihtimali vardır. Bu problem intagastrik infüzyon tekniğinin kullanımıyla çözülebilir (Orskov ve ark. 1979). Bu teknikte hayvanlar, uçucu yağ asitlerinin rumene ve kazenin de abomazuma infüze edilmesiyle beslenirler. Rumendeki mikrobiyel fermentasyon elimine edilir ve hayvanların normal besleme şartları bu yöntemle muhafaza edilebilir.

Belli bir sınıra kadar rasyona yapılan ilaveler endojen PD ekskresyonunu etkileyebilir (Giesecke ve ark. 1984, Lindberg ve ark. 1989, Chen ve ark. 1992b). Endojen pürin derivatan olan allantoin, ürikasit ve ksantin+hipoksantin idrarla atılımını ölçmek amacıyla, koyunlar ve yetişkin sığırlar intagastrik infüzyonla, buzağular süt ikame yemleri ve proteinsiz rasyonlarla beslendiklerinde, toplam

PD'larının sığırdaki (514 (SE 20.6) mmol/kg $W^{0.75}$ /gün), koyun (168 (SE 5.0) mmol/kg $W^{0.75}$ /gün) ve domuzla (166 (SE 2.6) mmol/kg $W^{0.75}$ /gün) karşılaştırıldığı zaman önemli miktarda fazla olduğu görülmüştür. Sığır plazması ksantin oksidaz (EC 1.2.3.2) aktivitesine sahip olmasına rağmen, koyun ve domuz plazmasının bu aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiş, ürikazın ise sığır ve domuz plazmasında (EC 1.7.3.3) bulunmadığı, koyun plazmasında iz miktarlarda olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle endojen PD atılımındaki tür farklılıklarının, dokulardaki ve özellikle kandaki ksantin oksidaz aktivitesinin farklı profillerine bağlı olarak, yüksek ksanlin oksidaz aktivitesinin pürinlerin yeniden kullanılamayan bileşiklere yıkılmasını artırmasıyla meydana geldiği ifade edilmektedir (Chen ve ark.1990c). Rasyon proteini nükleik asit içermediği zaman, hipoksantin, ksantin ve ürik asitin allantoinine dönüşümünden sonra endojen allantoinin atılımı sığırlarda ve kuzularda sırasıyla 72 ve 26 mg/kg $W^{0.75}$ /gün olarak hesaplanmıştır (Fujihara ve ark. 1987).

Dişi domuzlarda gebeliğin endojen PD ekskresyonunu etkilemediği, bu nedenle idrardaki PD'nın atılımından pürinlerin duodenuma geçişlerini değerlendirmek amacıyla daha önceden gebe olmayan hayvanlar için geliştirilen (Balcells ve ark. 1991) denklemlerin gebe hayvanlarla uzun süreli kullanımlarda geçerli olmadığı belirtilmektedir (Martin Orue ve ark.1995).

Balcells ve ark.(1993), nitrojen ilavesiyle toplam PD'nın idrardaki atılımında artış olduğunu ve bu cevabın atılan allantoinin artmasına bağlı olarak (26.9-66.4 mg/kg $W^{0.75}$ /gün) meydana geldiğini öne sürdüler. Ksantin, hipoksantin ve ürik asit atılım oranlarının sırasıyla ortalama 1.8 (SE 0.17), 5.4 (SE 0.21) ve 7.2 (SE 0.36) mg/kg $W^{0.75}$ /gün olduğu ve fazlaca değişiklik göstermediği bildirildi. Minimum amonyak konsantrasyonunun (yaklaşık 50 mg/L) muhafaza edilmesinin, kuru madde aıımı ve fermentasyon oranındaki anlamlı azalmalardan sakınmak için gerekli olduğu, bununla birlikte rumendeki NH_3 konsantrasyonunun belli bir oranın üzerine çıkmasının bir sonucu olarak idrarla atılan allantoinin ve duodenumdaki mikrobiyel N akımının artabildiği ilade edilmektedir.

Diğer sınırlamalar olmadığında, mikrobiyel enerjetik etkililik olarak tanımlanabilen fermente edilmiş enerji ilavesi ve rumenden gelen mikrobiyel ürün arasındaki ilişkinin, toplam sentezlenmeye karşı mikrobiyel ürün akışının oranı ve mikroorganizma popülasyonunun enerji harcamalarının karşılanması ile etkilendiği bildirilmektedir. (Dewhurst ve Webster, 1992). Dewhurst ve ark. (1987), enerji ilavesine ilişkili olarak, idrarla atılan allantoin miktarının rumenden gelen solidlerin fraksiyonel akış oranındaki (Ks) değişikliklerle etkilendiğini ortaya koymuşlardır.

Koyunlar için sabit endojen katkı olduğu düşünülerek yapılan çalışmalarda ise, tespit edilen geri elde etme değerleri değişkenlik (0.15-1.00) arz etmiştir (Tablo1). Yapılan araştırmalar emilen pürinlerin koyunlarda doku nükleik asitlerine dönüşebildiğini göstermektedir (Condon ve ark. 1970, Smith ve ark. 1974, Razzaque ve ark. 1981). Bu nedenle emilen pürin miktarına göre PD'nın idrarla atılım oranı lineer değildir. Ancak sığırlarda sınırlı da olsa emilen pürinlerin dokularda kullanımı söz konusu olduğundan dolayı bu oran lineardır (Verbic ve ark. 1990 Tablo 1).

Ekzojen pürinlerin idrardaki PD'na katkısı, pürin nükleotidlerinin, RNA ya da izole bakterilerin post ruminal infüzyonuyla tespit edildi (Mayer ve ark. 1995). Ekzojen pürinler, pürin nükleozidleri ve serbest bazları olarak bağırsaklardan emilirler (Wilson ve Wilson 1962). Eğer bağırsak duvarını geçişlerinde ksantin, ürikasit ve allantoinine dönüşmezlerse, ekzojen olarak vücuda alınan pürinlerin doku nükleik asitlerinin oluşumunda kullanılmaları söz konusu olacaktır (ksantin çok düşük bir oranda yeniden kullanılabilir) (Hitchings, 1978). Sığırdakinin aksine, koyun intestinal mukozası çok az da olsa ksantin oksidaz aktivitesine sahiptir (Akhalidi ve Chaglassian, 1965) ve bu nedenle ekzojen pürinlerin yeniden kullanılamayan derivatlara dönüşümü anlamlı bir miktar teşkil etmez (Chen ve ark. 1990b).

Şayet bağırsak dokusundan emilen pürinlerin yıkılması anlamlıysa, portal dolaşımdaki ürik asit ve allantoinin konsantrasyonları fazla miktarda olmalıdır. Bu nedenle, koyunlarda bağırsak ve karaciğer dokularına giren emilmiş pürinlerin çoğunun

Tablo 1. Koyun ve sığırdaki infüze edilen pürinler ya da nükleik asitlerin geri elde edilmesi.

İnfüzyon Bölgesi	Substrat	Geri Elde Edilme	Kaynaklar
Koyun			
Abomasum	(14C) Adenin	32	Condon ve ark 1970
Abomasum	RNA	75-90	Condon ve Hatfield 1970
Rumen	İşaretili bakteri	15	Smith ve ark. 1974
Duedonum	RNA	29	Antoniewicz ve ark. 1980
Rumen	İşaretili bakteri	20-27	Razzaque ve ark.1981
Duedonum	RNA	52	Giesecke ve ark. 1984
Abomasum	Pruten*	82-100	Fujihara ve ark.1987
Abomasum	Pruten	77	Chen ve ark.1990b
Duedonum	Digesta+RNA	80	Balcells ve ark.1991
İntravenöz	Allantoin	72	Chen ve ark.1991
Sığır			
Duedonum	Adenin	65	McAllan, 1980
Abomasum	Pruten	77	Verbic ve ark. 1990

Pruten: Prolein konsantrasyonu olarak kullanılan metanol substratından elde edilen bir bakteri kültürüdür.

kullanılabilir formlarda olduğu belirtilmektedir. (Chen ve ark. 1990b).

PD vücutta farklı enzim profillerine sahip farklı bölgelerde üretilirler. Koyunda rumen bakterileri nükleik asitlerinin kullanımı ölçüldüğünde, en az %5'inin karaciğer, dalak ve böbrekte bulunduğu, diğer %20'sinde kaslarda görüldüğü ifade edilmiştir (Smith ve ark. 1974). Endojen PD'ları tüm dokularda üretilir. Koyunlarda tüm ekstrahepatik hücreler çok az sevide ksantin oksidaz aktivitesi içerirler(Al-Khalidi-Chaglassian,1965). Bu enzimin etkisiyle ksantin, hipoksantin ve ürik asit olarak kana geçen ve orada taşınan endojen PD'larının oranları fazla olmaktadır (Chen ve ark. 1990c). Bununla birlikte ekzojen pürinlerin yıkılımlından köken alan PD, ksantin oksidaz ve ürikazın yüksek aktivitelerine sahip olan karaciğerde meydana getirilir ve PD'nın çoğu allantoin formundadır. Bu nedenle, plazmadaki ve dolayısıyla idrardaki PD'nın son kompozisyonu direkt olarak endojen ve ekzojen kaynaklardan gelen katkıya göre değişmektedir. Koyundaki ekzojen pürinlerin emilimi ve PD'lerinin idrarla atılımı arasındaki ilişki Şekil 2'de gösterilmektedir.

Emilen mikrobiyel pürinlerin vücuda katkısı az olduğu zaman, PD atılımının emilen mikrobiyel

purin miktarını ölçmede kullanılabilmesi için, idrarla atılan PD'nın toplamına etki eden endojen katkısı belirlemek amacıyla bir düzeltmeye ihtiyaç olacaktır. Bu düzeltme idrardaki toplam atılım $0.6 \text{ mmol/kgW}^{0.75}/\text{gün}$ 'den daha az olduğu zaman uygulanmaktadır (Chen ve ark. 1990b).

$$Y=0.84X+(1.50BW^{0.75} e^{-0.25x})$$

Y= Endojen ve ekzojen orijinli toplam PD'larının idrardaki atılım miktarı (mmol/gün), X= Emilen mikrobiyel pürinlerin miktarı, $W^{0.75}$ = Metabolik vücut ağırlığı. Bu model, parantez içerisinde sunulan şekliyle, ekzojen pürinlerin azalmasıyla hayvanlar tarafından kullanım için hazır olan endojen pürinlerin katkısını doğru olarak belirlemede kullanılır. Ekleme Y'den X'in hesaplanmasının Newton'un iteration işleminin ortalamasıyla yapıldığı ifade edilmektedir(Chen ve ark.1992a).

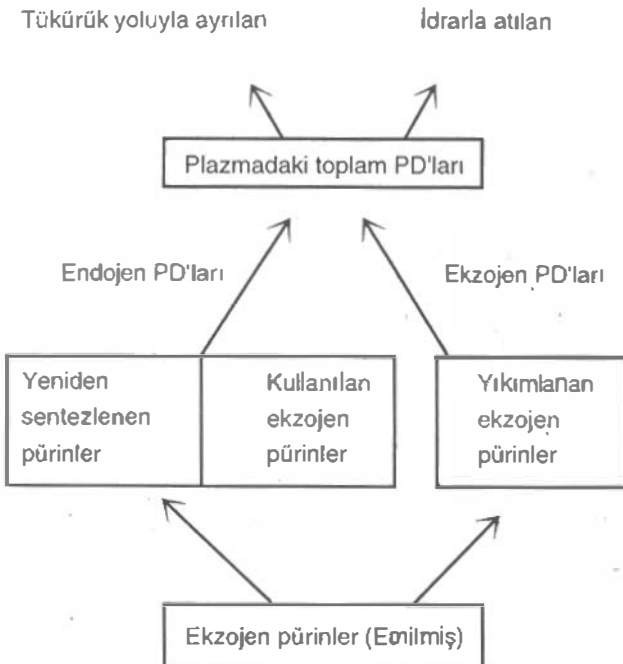
İdrardaki toplam PD atılımı yaklaşık $0.6 \text{ mmol/kgW}^{0.75}/\text{gün}$ 'den daha fazlaysa endojen katkının çok az olacağı ve sıfır olarak alınabileceği bildirilmektedir. Genellikle , enerji ihtiyaçlarının yaklaşık 0.8 katı ve üzerinde normal olarak beslenen koyunlara bu uygulandığında, emilen pürinlerin miktarının aşağıdaki formüle göre hesaplanması gerektiği ifade edilmektedir.

$$X=d / 0.84$$

X= Emilen pürinlerin miktarı, d= Toplam PD'nın idrardaki atılımı (Chen ve ark. 1990b).

Pürinlerin giriş-çıkış ilişkisine bakılarak, kana giren PD'nın koyunlarda (n=6) %84'ü, sığırlarda (n=2) %85'inin devamlı olarak idrarla atıldığı gösterildi. Allantoin ve ürik asitin %10 kadarının tükürük yoluyla geri döndükleri ve orada tamamen yıkımlandıkları bildirildi (Chen ve ark. 1990c). Glomeruler filtrasyon oranı değişmediği için, allantoinin plazma konsantrasyonu direkt olarak endojen allantoinlerin girişiyle ölçülebilmektedir. Greger ve ark. (1976), ratlarda nefron boyunca allantoinin geri emilimi ya da sekresyonunun olmadığını ileri sürdüler. Glomeruler filtratdan allantoinin net geri emiliminin koyunda meydana geldiği, fakat kapasitesi sınırlı olduğundan endojen allantoin üretimine eşit (~ 2.9 mmol/gün) tubuler kapasiteyle doyunlaştırıldığı ifade edilmektedir. Bu nedenle kana herhangi miktar allantoin ilavesinin glomeruluslar içine filtre edildikten sonra idrarda atılacağı bildirilmektedir (Chen ve ark.1991).

Şekil 2. Koyundaki ekzojen pürinlerin emilimi ve PD'lerinin idrarla atılımı arasındaki ilişki (Chen ve ark. 1990b).



Koyunlar, allantoinin fizyolojik miktarlarını ölçmek için uçucu yağ asitleri ve kazeinin intragastrik infüzyonuyla beslendiklerinde, geri alınımın % 72 olduğu ve geri kalan kısmın bağırsak içine diffüze olduğu ve bağırsak mikroflorası tarafından yıkımlanması ile kaybolduğu bildirilmektedir. Kreatinine dayalı hesaplamada, allantoinin glomeruler filtrasyon oranının ve tubuler geri emiliminin intravenöz infüzyonla değişmeyeceği gösterildi. Günlük maksimum 1.28 mmol olan tubuler geri emilim, tek başına endojen allantoinin yüklenmesiyle doyunluğa ulaştırıldı. Yapılan araştırmada, koyunlar normal olarak beslendiğinde allantoinin atılımında iki katı farklılık olduğu, sindirilen her ünite yem için hayvana olan mikrobiyel katkının yemleme seviyesiyle etkilenebildiği ifade edilmektedir (Chen ve ark. 1991)

İdrarla atılımın yanı sıra, PD sütle atılabilir veya tükürük yoluyla kaybolabilir. Kirchgesner ve Krauzel (1985) toplam pürin derivatlarının yaklaşık 0.06-0.07'sinin süt yoluyla atıldığını göstermişlerdir.

İdrardaki ve sütteki allantoinin endojen pürinler kadar rumenden de kaynaklandığını düşünmek gerekir. Pürin metabolitleri olan allantoin ve ürik asit sütçü sığırlarda sadece idrarda değil kayda değer miktarlarda sütte de tespit edilmektedir. Sül üretimine bağlı olarak değişen sütteki allantoinin miktarı toplam allantoin atılımının % 1-4 arasında olmasına rağmen; bu atılımın, rumendeki mikrobiyel gelişimin temel göstergesi olan laktasyondaki net enerji alımıyla (NE_L) olan ilişkisi idrardan ziyade süt için daha yüksektir. Holstein sığırlarda idrarda ve sütteki allantoinin atılım miktarı sırasıyla yaklaşık 294 ve 4.1mmol/gün iken ürik asit için bu değerler 35 ile 1.1 mmol /gün olarak değiştiği bildirilmektedir (Giesecke ve ark.1994).

İdrardaki Pürin Derivatlarının Yem Tüketiminin Tespitinde Kullanımı

Rumendeki mikrobiyel sentez enerji bağımlı ve fermente edilebilir substratların elde edilebilmesiyle yakından ilişkili olduğu için, PD'nın atılımı rumende fermente edilebilir organik maddelerin alınımını yansıtmaktadır. Eğer sindirimin ruminal ve postruminal kısımları bilinseydi, PD'larının atılımı sindirilebilir organik madde (DOM) alınımının bir göstergesi olarak kullanılabilirdi. Değişik ruminantlarda yapılan çalışmalarda, allantoinin idrarla atılımının

DOM alımıyla pozitif bir ilişkiye sahip olduğu gösterildi (Vercoe, 1976, Antoniewicz ve ark, 1981, Lindberg, 1985, Balcells ve ark. 1993, Liang ve ark. 1994). PD'nin atılımıyla DOM alımı arasındaki ilişki, fermente edilen her ünite maddeye göre duodonuma giren mikrobiyel protein miktarının değişmesi gibi mikrobiyel protein katkısını etkileyen faktörlerle değişebilmektedir. Yemleme seviyesinin rumendeki mikrobiyel sentez üzerine etkisini araştıran Chen ve ark.(1992a), PD atılımını mikrobiyel ürünün bir göstergesi olarak kullandıklarında, DOM'nin her ünitesi için oluşan mikrobiyel azotun, her bir yaşam ağırlığı için tüketilen yem miktarıyla ilişkili olduğunu gözlediler. Bu aynı rasyon için bile PD:DOM oranında iki katına ulaşabilecek farklılıkların beklenebileceğini ifade etmektedir. Buradan daha da ileri gidilerek mikrobiyel ürünün ve buna bağlı olarak PD atılımının yem tüketiminin linear bir fonksiyonu olmadığı ortaya çıkmaktadır.

Tüm bu gözlemler, PD atılımının şayet belirli rasyonlarla beslenen belirli ruminantlar için özel bir ilişki tespit edilmişse, o zaman yem tüketiminin bir göstergesi olabileceğini öne sürmektedir. Böylesi bir uygulamanın meradaki hayvanlar için düşünülebileceği ifade edilmektedir (Mayes ve ark. 1995).

Sığır ve koyunlarda, mikrobiyel protein akım miktarını belirlemek için yapılan araştırmalarda (Chen ve ark. 1990b, Verbic ve ark.1990 ve Balcells ve ark. 1991) değişik modeller geliştirildi. Ancak bu çalışmalarda, rumen mikroorganizmalarındaki pürin N : Toplam N oranı ve emilen pürinlerin geri elde edilmesi, tanımlanmaları gerekli olan önemli iki parametreyi oluşturmaktadır.

Mikrobiyel proteinin bağırsaktaki akışını tespit etmek için uygulanan PD atılımı ve diğer metotlar (35S ya da 15 N ye dayalı) arasında bir karşılaştırma yapılmış ve her bir çalışma içerisinde (Lindberg ve ark. 1989, Puchala ve Kulaseck, 1992, Perez ve ark. 1994) PD atılımı ve mikrobiyel N akışı arasında karşılıklı bir ilişki olduğu fakat deneyler arasında önemli farklılıklar bulunduğu sonucuna varılmıştır. Bunların duodonuma giren mikrobiyel materyaldeki pürin N: toplam N oranındaki ya da emilen pürinlerin idrarda elde edilmesindeki farklılıklara bağlı olarak meydana gelebileceği ifade edilmektedir (Mayes ve ark.1995). Bu belirsizliklerin nedeninin bilinmesi gerekli olmakla birlikte, ruminantlarda mikrobiyel protein üretimi ve

onu etkileyen faktörler üzerinde çalışmak için idrarla atılan PD'nin ölçümü metodu, çok elverişli ve basit bir metot olarak sunulmaktadır.

Kaynaklar

- Al-Khalidi, U.A.S. and Chaglasslan, T.H. (1965). The Species Distribution of Xanthine Oxidase. *Biochem.J.*, 97, 318-320.
- Antoniewicz,A.M., Heineman, W.W. and Hanks, E.M. (1980). The Effect of Changes in the Intestinal Flow of Nucleic Acids on Allantoin Excretion in the Urine of Sheep. *J.Agric. Sci.,Camb.*,95, 395-400.
- Antoniewicz,A.M., Heineman, W.W. and Hanks, E.M. (1981). Effect of Level of Feed Intake and Body Masson on Allantoin Excretion and the Allantoin to Creatinine Ratio in the Urine of Sheep. *Roczniki Naukowe Zootechniki H.*,8z,1, 49-65.
- Balcells, J., Guada. J.A., Castrillo, C. and Gasa. J. (1991).Urinary Excretion of Allantoin and Allantoin Precursors after Different Rates of Purine Infusion into the Duodenum. *J. Agric. Sci., Camb.*, 116, 309-317.
- Balcells, J., Fondevila, M., Guada, J.A., Castrillo, C., and Surra, J.C.E.(1993). Urinary Excretions of Purine Derivatives and Nitrogen in Sheep Given Straw Supplemented with Different Sources of Carbohydrates. *Anim. Prod.*, 57, 287-292.
- Chen, X.B., Chen, Y.K., Franklin, M.F., Orskov, E.R. and Shand, W.J. (1992a). The Effect of Feed Intake and Body Weight on Purine Derivative Excretion and Microbial Protein Supply in Sheep. *J.Anim.Sci.*,70, 1534-1542.
- Chen, X.B., Chowdry, S.A., Hovell, F.D. DeB., Orskov, E.R. and Kyle, D.J. (1992b).Endogenous Allantoin Excretion in Response to Changes in Protein Supply in Sheep.*J. Nutr.*,122, 2226-2232.
- Chen, X.B., Hovell, F.D. DeB. and Orskov, E.R. (1990a).Excretion of Purine Derivatives by Ruminants : Secretion of Allantoin into the Rumen via Saliva and Its Fate in the Gut. *Br. J. Nutr.*,63,197-205.
- Chen, X.B., Hovell, F.D. DeB., Orskov, E.R.and Brown, D.S. (1990b). Excretion of Purine Derivatives by Ruminants; Effects of Exogenous Nucleic Acid Supply on Purine Derivative Excretion by Sheep. *Br. J. Nutr.*, 63, 131-142.
- Chen, X.B., Kyle, D.J., Orskov, E.R. and Hovell, F.D. DeB. (1991).Renal Clearance of Plasma Allantoin in Sheep. *Exp. Physiol.*, 76, 59-65.
- Chen, X.B., Orskov, E.R. and Hovell, F.D. DeB. (1990c).Excretion of Purine Derivatives by Ruminants: Endogenous Excretion, Differences between Cattle and Sheep. *Br. J. Nutr.*, 63, 121-129.
- Condon, R.J., Hall, G., and Hatfield, E.E. (1970). Metabolism of Abomasally Infused 14C-Labelled RNA Adenine, Uracil and Glycine.*J. Anim Sci.*,31,1037-1038(Abstr.)
- Condon, R.J. and Hatfield, E.E. (1970).Metabolism of Abomasally Infused Ribonucleic Acid by Sheep. *J. Anim. Sci.*,31, 1037A.
- Dewhurst, R.J., Waters, C.J. and Webster, A.J.F. (1987).

- Use of Urinary Allantoin Excretion to Assess the Energetic Efficiency of Microbial Protein Yield in Sheep. *Anim. Prod.*, 44, 475A.
- Dewhurst, R.J. and Webster, A.J.F. (1992). Effect of Diet, Level of Intake, Sodium Bicarbonate and Monensin on Urinary Allantoin Excretion in Sheep. *Br. J. Nutr.*, 67, 345-353.
- D'Mello, J.p. (1982). Utilization of Dietary Purines and Pyrimidines by Non-Ruminant Animals. *Proc. Nutr. Soc.*, 41 (3), 301-308.
- Fujihara, T., Orskov, E.r., Reeds, P.J. And Kyfe, D.J. (1987). The effect of Protein Infusion on Urinary Excretion of Purine Derivatives in Ruminants Nourished by Intragastric Nutrition. *J. Agric. Sci., Camb.*, 109, 7-12.
- Giesecke, D., Ehrentreich, L. and Stangassinger, M. (1994). Mammary and Renal Excretion of Purine Metabolites in Relation to Energy Intake and Milk Yield in Dairy Cows. *J. Dairy. Sci.*, 77(8)2376-2381.
- Giesecke, D., Stangassinger, M., Tiemeyer, W. (1984). Nucleic Acid Digestion and Urinary Purine Metabolites. In (Sheep Nourished by Intragastric Nutrition, *Can. J. Anim. Sci.*, 64, suppl., 144-145.
- Gots, J.S. (1971). Regulation of Purine and Pyrimidine Metabolism. In (Metabolic Regulation, vol.5, pp.225-255. (H.J. Vogel, editor). New York and London: Academic Press.
- Greger, R., Lang, F. and Deetjen, P. (1976). Renal excretion of Purine Metabolites, Urate and Allantoin, by the Mammalian Kidney. In International Review of Physiology: Kidney and Urinary Tract Physiology II, vol.11, ed. K. Thurau, pp.257-281, University Park Press, Baltimore, London, Tokyo.
- Greife, H.A. (1984). Nutritive value of Dietary Ribonucleic Acid and Its Nucleosides for Growing Rats with a Diet Deficient in Nonessential Amino Acid Status of Rats. *Zentralbl Veterinarmed. A.*, 31(4), 269-279
- Hitchings, G.H. (1978). Uric Acid: Chemistry and Synthesis. In *Uric Acid*, pp.1-20 (editors, W.N. Kelly and J.M. Weiner), Berlin, Heidelberg and New York: Springer-Verlag.
- Kirchgessner, M. And Kreuzer, M. (1985). Hamstoff und Allantoin in der Milch von Kühen Während und nach Verfütterung zu Hoher und zu Niedriger Protein-mengen. 5. Zum Einfluß von Proteinlehmahrung bei Laktierenden Kühen und Daraus Entstehenden Nebenwirkungen. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 54, 141.
- Liang, J.B., Matsumo, M. And Young, B.A. (1994). Purine Derivative Excretion and Ruminal Microbial Yield in Malaysian Cattle and Swamp Buffalo. *Anim. Feed. Sci. Tech.*, 47, 189-199.
- Lindberg, J.E. (1985). Urinary Allantoin Excretion and Digestible Organic Matter Intake in Dairy Goats. *Swed. J. Agric. Res.*, 15, 31-37.
- Lindberg, J.E., Bristav, H. And Manyenga, A.R. (1989). Excretion of Purines in the Urine of Sheep in Relation to Duodenal Flow of Microbial Protein. *Swed. J. Agric. Res.*, 19, 45-52.
- Martin Orue, S.M., Balcells, J., Guada, J.A. and Castrillo, C. (1995). Endogenous Purine and Pyrimidine Derivative Excretion in Pregnant Sows. *Br. J. Nutr.*, 73, 375-385
- Mayes, R.W., Dove, H., Chen, X.B. and Guada, J.A. (1995). Advances in the Use of Fecal and Urinary Markers for Measuring Diet Composition, Herbage Intake and Nutrient Utilization in Herbivores. In "Recent Developments in the Nutrition of Herbivores Proceedings of the 14th International Symposium on the Nutrition of Herbivores", Ed. M. Jourmet, E. Grenet, M.H. Farce, M. Theriez, C. Demarquilly, pp.381-406, INRA Editions, Paris.
- McAllan, A.B. (1980). The Degradation of Nucleic Acids in the rumen and the Removal of Breakdown Products from the Small Intestines of Steers. *Br. J. Nutr.*, 44, 99-112.
- McAllan, A.B. (1982). The Fate of Nucleic Acids in Ruminants, *Proc. Nutr. Soc.*, 41, 309.
- McAllan, A.B. and Smith, R.H. (1973). Degradation of Nucleic Acid Derivatives by Rumen Bacteria in Vitro. *Br. J. Nutr.*, 29, 467-474.
- Metzler, B.E. (1977). *Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells*, p.881. London: Academic Press.
- Mura, U., Osman, A.M., Mohamed, A.S., Di Martino, D., and Ipata, P.L. (1987). Purine Salvage as Metabolite and Energy Saving Mechanism in *Camelus dromedarius*: The Recovery of Guanine. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 87(1), 157-160.
- Murray, A.W. (1971). The Biological Significance of Purine Salvage. *Ann. Rev. Biochem.*, 40, 811-826.
- Orskov, E.R., Grubb, D.A., Wenham, G. And Corrigan, W. (1979). The Fastenace of Growing and Fattening Ruminants by Intragastric Infusion of Volatile Fatty Acids and Protein. *Br. J. Nutr.*, 41, 553-558.
- Perez, J.F., Balcells, J., Guada, J.A. and Castrillo, C. (1994). Microbial-N Synthesis in the Rumen: Urinary Purine Derivatives vs. 15 N as an Estimative Methods, *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 3, 233.
- Puchala, R. And Kufaseck, G.W. (1992). Estimation of Microbial Protein Flow from the Rumen of Sheep Using Microbial Nucleic Acid and Urinary Excretion of Purine Derivatives., *Can. J. Anim. Sci.*, 72, 821-830.
- Razzaque, M.A., Topps, J.h., Kay, R.N.B. and Brockway, J.M. (1981). Metabolism of the Nucleic Acids of Rumen Bacteria by Pre ruminant and Ruminant Lambs. *Br. J. Nutr.*, 45, 517-522.
- Smith, R.C., Moussa, N.M. and Hawkins, G.E. (1974). Utilization of the Nucleic Acids of *Escherichia coli* and Rumen Bacteria by Sheep. *J. Biol. Chem.*, 32, 529-537.
- Verbic, J., Chen, X.B., MacLoad, N.A. and Orskov, E.R. (1990). Excretion of Purine Derivatives by Ruminants: Effects of Microbial Nucleic Acid Infusion on Purine Derivative Excretion in Steers. *J. Agric. Sci., Camb.* 114, 243-248.
- Vercoe, J.E. (1976). Urinary Allantoin Excretion and Digestible Dry-Matter Intake in Cattle and Buffalo. *J. Agric. Sci., Camb.* 86, 613-615.
- Wilson, D.W. and Wilson, H.C. (1962). Studies in Vitro of the Digestion and Absorption of Purine Ribonucleotides by Intestine. *J. Biol. Chem.*, 237, 1643-1647.
- Zöllner, N. (1982). Purine and Pyrimidine Metabolism. *Proc. Nutr. Soc.*, 41, 329-342.