

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

**RATLARDA E VİTAMİNİ VE SELENYUMUN  
ALVEOLAR VE PERİTONAL MAKROFAJLARIN  
FAGOSİTİK AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

T 54883

Mehmet ÇAY

F.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Doç.Dr. Mesut AKSAKAL

ELAZIĞ - 1996

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
1- ÖNSÖZ.....	I
2 - GİRİŞ.....	1
3 - MATERYAL VE METOT .....	34
4 - BULGULAR .....	36
5 - TARTIŞMA VE SONUÇ .....	44
6 - ÖZET .....	52
7 - SUMMARY.....	53
8 - KAYNAKLAR.....	54
9- ÖZGEÇMİŞ.....	63
10- TEŞEKKÜR.....	64

# I ÖNSÖZ

Canlı organizması, fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesi için diğer besin maddeleri yanısıra vitaminler ve eser elementlere de gereksinim duyar. Genellikle diyete bağlı veya ilave olarak alınan vitaminler ve eser elementler, metabolik fonksiyonların fizyolojik sınırlar içinde seyretmesinde oldukça önemli rol oynarlar. Bunların yetersizliği durumlarında organizmada çeşitli bozuklukların ortaya çıktığı uzun zamandan beri araştırmacıların dikkatini çekmiştir (58,91,3,86,18,23))

Organizmaya yeterli düzeyde alınmaları gereken vitaminlerden bir kısmı, örneğin B grubu vitaminler, özellikle ruminantlarda organizma tarafından sentezlenebildiği halde, yağda eriyen vitaminler (A,D,E,K), dışarıdan besinlerle alınması zorunlu olan biyo-katalizör maddelerdir ve dış ortamdan alınmak zorundadırlar (91,58,32 3,14).

İnsanlar dahil bütün hayvanlar için esansiyel bir madde olarak kabul edilen, bitkisel orjinli olan E vitamini tokoferoller ve tokotrienoller (Tokoller) olarak bilinen, yağda eriyen bir grup bileşiğin genel adıdır (57,63,73). E vitamini' nin çoğu fonksiyonları bilinmemesine rağmen bilinen en önemli fonksiyonu antioksidant veya serbest radikal giderici olmasıdır. Bundan dolayı biyolojik sistemlerde özellikle hücre membranlarında, fosfolipitler içinde oluşan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemede önemli rol oynar. Bu özelliğinden dolayıdır ki; E vitamini fagositik ve diğer hücre membranlarının korunması için oldukça önem arz etmektedir (57,63,70,73,80,89).

Selenyum (Se), GSH-Px enziminin yapısına giren, lipidlerin oksidasyonu sonucu meydana gelen peroksitlerin katabolizmasında önemli rol oynayan organizma için oldukça önemli esansiyel eser elementlerden biridir. Organizma için düşük konsantrasyonlarda bile olsa gerekli olan esansiyel iz elementlerden biri olan Se' nin en iyi bilinen fonksiyonu, yapısına girdiği

glutasyon peroksidaz (GSH-px) enzimi tarafından lipid peroksidasyonu sonucu oluşan peroksit ve hidroperoksitlerin katabolize edilerek su ve alkollere çevrilmesinde önemli bir rol oynar. Özellikle yüksek bir metabolik aktivite gösteren fagositik hücreler ve diğer hücrelerin membran bütünlüğü korunmuş olur. Bu sebeple Se hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesinde etkin bir rol alır (28,53,32,71 ).

Organizmada belirli bazı hücrel fonksiyonların sürdürülebilmesi için E vitamini ve Se yeterli düzeyde besinlerle veya ilave olarak dış ortamdan alınması gereklidir. Yetersizliği durumunda birçok bozukluklar ortaya çıkmaktadır.

E vitamini ve Se yetersizliği kısaca belirtilirse; genç hayvanların çeşitli doku ve organlarında özellikle karaciğer, kalp, iskelet kasları , beyin ve sinir sisteminde değişik bozukluklara, büyüme ve gelişmede yavaşlamaya, ergin ruminantlarda infertilite, abort ve retentio secundunariuma, gebe olan rat ve ruminantlarda embriyonik ölümlere yol açması sebebiyle reproduktif performansın azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca özellikle genç olanlarda kalp ve iskelet kaslarında oluşan dejenerasyonların sebep olduğu lokomotor bozukluklarla karakterize nutrisyonel bir bozukluk olan " Beyaz Kas Hastalığı " oluşmaktadır. Yetersiz E vitamini alan ratların lizozomlarının frajilitelerindeki artış nedeniyle bunlardan serbestlenen hidrolitik enzimlerin dokularda ayrı ayrı substratlara etkiyerek nükleik asit, protein, karbonhidrat, mukopolisakkarit ve öteki hücre komponentlerinin genel bir yıkımına neden olduğu, bunun sonucunda da tipik bir kas distrofisine yol açtığı bildirilmiştir (32,91,73). Ayrıca en önemli defektlerde immun sistemde bozuklukların meydana gelmesidir. Örneğin, mikrobial ve viral enfeksiyonlara karşı drenin düşmesi, nötrofil ve makrofaj fonksiyonlarında bozukluklar, humoral ve hücrel bağışıklıkta yetersizliklerin görüldüğü birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (55,25,66,32,18,20, 44, 49).

### III

Bilindiği gibi fagositoz; vücudun istilacı mikroorganizmalara karşı savunulmasında ve artık maddelerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynayan bir süreçtir. Diğer bir deyimle vücuda giren her türlü partikül ve mikroorganizmaları yakalamak, bir vezikül içinde hücreye almak ve sindirerek yok etme işlevine fagositoz denmektedir ( 47,97,4,85). Hem makrofajlar hem de nötrofil granüositler, bakteri ve yabancı maddelere karşı yüksek bir fagositik aktiviteye sahip olmalarıyla bilinirler (4,85,97).

Fagositozis, Respiratory burst ismi verilen reaksiyonla ilişkilidir. Bu reaksiyon fagositik hücrelerin oksijen ve glikoz tüketiminin artması ve bunun sonucu olarak süperoksit ( $O_2^-$ ) radikalleri ve buna bağlı olarak da diğer oksijen metabolitlerinin (hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikaller ( $OH^-$ ) ve singlet oksijen ( $^1O_2$ ) ) şekillenmesi ile karakterizedir (12,14,29,97). Esasında bu oksidan moleküller belirli düzeyde kaldıkları sürece organizmanın yabancı maddeler ve enfeksiyöz ajanlara karşı önemli savunma moleküllerindedirler. Fagositozda nötrofil ve makrofajlar tarafından salınarak bakterisidal etki gösterirler. Metabolizma esnasında meydana gelen bu radikaller enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler tarafından inaktive edilmeye çalışılırlar. Ancak bunlar belirli düzeyin üzerinde oluşur yada E vitamini ve Selenyum gibi antioksidanlar yetersiz olursa yani homeostazis bozulursa, söz konusu oksidan moleküller (radikaller) hücrenin veya organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Özellikle fagositik hücrelerin tahribine sebep olurlar. Doku hasarının olduğu bölgede doğal enzimlerden kaçabilmiş olan oksidan moleküller hücre veya kapillar membranlardaki lipitleri etkileyerek "lipit peroksidasyonunu" başlatırlar. Az da olsa başlamış olan bu reaksiyonun artmaması için antioksidan mekanizmalar devreye girer. İşte E vitamini ve Se böylesi bir oksidatif haraplanmanın önlenmesinde çok önemli rollere sahiptirler.

#### IV

Şöyleki; E vitamini bu radikalleri bloke ederek diğer zararlı reaksiyonları durdurur. Se ise yapısında bulunduğu GSH-px ile oluşan  $H_2O_2$ ' i suya ayrıca lipid peroksitleri de alkol ve suya dönüştürerek zararsız hale getirir. Böylece fagositik hücreler bu serbest radikallerin tahrip edici etkisinden kurtulmuş olur ( 26,52,12,67,89)

E vitamini ve ayrıca Se yetersizliğinde; fagositozis esnasında üretilen serbest radikallerin doymamış yağ asitlerinde lipid peroksidasyonu oluşturması sonucu fagositik hücreler tahrip edilir ve fonksiyonlarını yitirirler. Bundan dolayıdır ki; E vitamini ve Selenyum fagositozis de büyük önem arz etmektedir. Son yıllarda E vitamini ve Selenyum ile yapılan çalışmalar, fagositik aktivite ve immun sistem üzerine yoğunlaştırılmıştır. Bu konunun aydınlatılabilmesi için birçok çalışmaya ihtiyaç olduğu ifade edilmektedir.

Bu noktadan hareketle, E vitamini ve Selenyumun, özellikle vücudun dış ortamla irtibatının bulunduğu solunum ve sindirim sistemleri ile ilgili alveolar ve periton makrofajlarının fagositik aktivite üzerindeki etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

# GİRİŞ

## FAGOSİTOZ

Fagositoz; vücudun istilacı mikroorganizmalara karşı savunulmasında ve artık maddelerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynayan bir süreçtir (47,97). Diğer bir deyimle vücuda giren her türlü partikül ve mikroorganizmaları yakalamak, bir vezikül içinde hücreye almak ve sindirerek yok etme işlevine fagositoz denir (4,85). Bu süreçte, partiküller ekstraselüler ortamdan intraselular vakuollere (fagozomlara) taşınırlar. Tek hücreli canlıların beslenmeleri için kullanılan bu olay, çok hücreli canlılarda başlıca savunma mekanizmalarındandır (16,22). Fagositoz, bakteriyel infeksiyonların erken devresinde bakterinin yayılımını sınırlamak ve infeksiyonunun ilerlemesini durdurmak bakımından önemlidir (16).

Gelişmiş organizmalarda vucutta fagositik savunma yapan iki tip fagositik hücre vardır. Birincisi; polimorf nüklear (PMN) fagositler (nötrofil) ikincisi; mononüklear (MN) fagositler (monosit ve makrofajlar)' dir (22,85). Bunlardan nötrofil ve monositler kan dolaşımında bulunmaktadır. Bunlar hareket halinde olup kemotaktik maddelerin etkisiyle infeksiyon bölgesine göç edebilme özelliğine sahiptirler. Monositler, dokulara geçerek spesifik doku makrofajlarına dönüşürler. Sadece dokularda bulunan ve özel adlarla anılan bu hücreler buldukları bölgeye göre isim alırlar. örneğin; karaciğerde kupferin yıldız hücreleri , akciğerde alveolar makrofaj, peritonda peritoneal makrofaj, beyinde mikrogilya v.s. (4,22,51,82,85). Doku makrofajları değişik hücre şekillerine ve bölünebilme kapasitesine sahip ve daha uzun süre yaşayabilmesine rağmen nötrofiller sınırlı yaşam süresine sahiptirler (22). Bir polimorf nüveli nötrofil 5-25 adet bakteriyi fagosite edebilir. Bakterilerden daha büyük parçaları ise fagosite edemez. Makrofajlar ise 100 kadar bakteriyi fagosite edebildikleri gibi, eritrosit ve lökosit gibi hücreleri, protozoonları ve daha büyük çaptaki partikülleri de fagosite edebilirler (16,47).

PMN' lerin olgunlaşması ile mikrop öldürme gücüne (mikrobisidal güce) sahip nötrofiller gelişir. Nötrofiller iki çeşit granül içerirler. Bunlar; azurofil (primer) granüller ve spesifik (sekonder) granüller olup morfolojileri, içerikleri ve orjinleri bakımından farklılık gösterirler (47,82,,85).

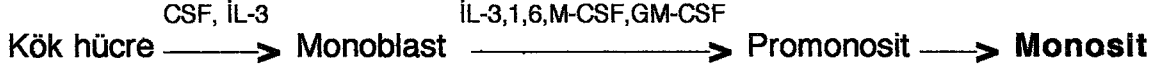
1- Azurofil (primer) granüller: Bunlar daha büyük olup premyelosit safhada yapılır. Asit pH' da olup bir çok hidrolitik enzimler içerirler. Bunlar; myeloperoksidaz (MPO), asit fosfataz, beta glukronidaz, elestaz, kollogenaz, lizozim, katyonik proteinler, katepsin G vs. bulunmakta ve golgi aparatının konkav yüzüne yakın yerden orjin almaktadırlar. Primer granül komponentleri kemoatraktanların aktivasyonunda ve inflamasyon proçesinin lokalizasyonunda önemli rol alırlar. Bunlar mikroorganizmaların sindirim ve öldürülmesi görevini üstlenmişlerdir (4,47,76,85).

2- Spesifik (sekonder) granüller: Daha küçük yapılı olup myelosit safhasında oluşurlar. Olgun nötrofillerin içinde sekonder granüllerin sayısı, primerlere oranla yaklaşık üç kat daha fazladır (85). Bunlar; sitokrom b, B<sub>12</sub> vitamini bağlayan protein ve laktoferrin içerirler. Ayrıca primer granüllerde bulunan lizozim ve kollogenaz da vardır. Nötrofillerin diapedezi ve dokulara migrasyonu esnasında serbestlenirler. Spesifik granül ürünleri kompleman C<sub>5a</sub> (kemoatraktan özelliğe) ve C<sub>3b</sub>'nin (opsonin) açığa çıkması için kompleman sistemini aktive ederler. C<sub>5a</sub> ve C<sub>3b</sub> monositler için tercihli kemotaktiklerdir. PMN lökositlerin metamorfozu esnasında, mitokondriler sayıca ve hacimce küçülür. Glikojen partikülleri stoplazmada toplanır, ribozom sayıları ve endoplazmik retikulum miktarı azalır. Enerji üretimi için glikolizis baskın duruma geçer (47,75,85).

Mononüklear (MN) fagositler (monosit ve makrofajlar) orjinlerini kemik iliğindeki pluripotent hücrelerden alırlar. Bunların farklılaşması sonucu gelişen myeloid projenitör hücreler, bazı sitokinlerin (İL-3, İL-1, İL-6, GM-CSF, GCSF-Granüosit-coloni sitimulasyon faktörü) etkisi altında gelişerek önce bunlardan



monoblast, sonrada promonosit ve monositler meydana gelir. Bu gelişme aşamaları aşağıda gösterilmiştir (4).



MN' ler kemik iliğinde kısa bir süre kalırlar. Dolaşımında bulunma süreleri PMN'lerden daha uzundur. MN' lerin olgunlaşma süreçleri PMN' lerden daha komplekstir. Çünkü MN hücreler morfoloji ve fonksiyonel kapasitelerine bağlı olarak çevrelerinde daha fazla değişikliklerle karşı karşıya gelmektedirler. MN' lerin makrofajlara dönüşmesi esnasında peroksidaz içerikli granüller kaybolur. Hücre hacimce büyümekle beraber stoplazmik organellerden mitokondri ve lizozomlar sayıca artar. Bu hücrelerin fonksiyonel gelişimi; fagositoz yeteneklerinin artışı, hücre yüzeyindeki Fc reseptörlerinin sayıca artışı ve lenfosit aktivasyonuna olan isteklilik ile gösterilir. Olgun makrofajlar bulunduğu dokuya göre spesifik özellikler kazanırlar. Örneğin; alveolar makrofajlarda enerji sağlamada aerobik metabolizma hakimdir. Oysa peritonal makrofajlarda enerji sağlama olayı glikolitik metabolizmaya bağlıdır (47).

Fagositoz, bir takım hücrel ve dokusal olaylar arz eden kompleks bir olaydır. Mikroorganizmaların değişik hücreler (PMN, MN) tarafından fagosit edilmesi, farklı biçimlerde oluşmakla birlikte, şekillenen olaylar temelde büyük benzerlik gösterir (16,22,97).

Fagositoz olayı farklı, fakat birbiriyle ilişkili birbirini izleyen dört aşamadan meydana geldiği kabul edilmektedir (4,16,22,47,75).

- 1 - Kemotaksis
- 2- Oponizyasyon ve bağlanma
- 3- Yutma
- 4- Öldürme ve sindirme

### 1- Kemotaksis:

Bir yangı sürecinde erken dönemde şekillenen olayların başında, fagositik hücreler (nötrofil ve makrofajlar) hedef organizma veya parçacıkların bulunduğu yere göç ederler. Bu göç olayına "kemotaksis" denir. (16,22,31,64,97). Kemotaksis; hücre hareketlerinin rastgele bütün yönlere doğru olabildiği, yönlendirilmemiş spontan (kendiliğinden olan) hareketlerden farklıdır. Akut bir yangı cevabına ilk olarak dolaşımdaki PMN'lerin yangılı bölgeye ulaşmaları üç aşamada gerçekleşir. Bunlar marginasyon, pavemantasyon ve diyapedezdir. Lokositlerin hareket halindeki kandan damar çeperine translokasyonuna (yapışmasına) marginasyon denir. Pavemantasyon; lökositlerin damar çeperine geçici olarak toplanıp birikmeleri anlamındadır. Mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber bu olayda  $Ca^{+2}$  iyonlarının önemli oranda etkili olduğu bilinmektedir. Pavemantasyona uğrayan lökositler yangı bölgesine geçene kadar damar çeperinin iç yüzünde birikir ve tutulurlar daha sonraki aşamada ise iki endotel hücrelerinin arasındaki boşluktan (interendotelial junction) geçerek ekstravasküler doku alanına girmiş olurlar. Lökositlerin kan damarı çeperinden bu geçiş eylemine "diapedez" denir. Bütün bu olaylar genel anlamda "Kemotaksis" olarak ifade edilmektedir (16,31,94).

Kemotaktik ajanlar nötrofil yüzeyindeki elektronegativiteyi azaltarak fagositlerin damar endotelyumuna adhezyonuna neden olurlar.  $C_{3b}$  reseptör eksikliği olan nötrofillerin damara yapışma güçleri zayıftır. Kemotaktik faktörler; istilacı mikroorganizmalardan salgılanan maddeler, bunlar bakteriyel ürünler olabileceği gibi mikroorganizma ile konakçı arasındaki etkileşim sonucunda da (dejeneratif hasarlı doku ürünleri, damarlardan salınan maddeler) oluşabilirler. Birçok Streptokok, pneumokok, stafilokok ve gram negatif bakteri türleri kemotaktik faktörler üretebilirler. Mikroorganizmaların fagositik hücrelere yönelik olarak kemotaktik uyarım meydana getirebildiklerinin en belirgin

özelliği, klasik veya alternatif yolla kompleman sisitemini aktive edebilmeleridir. Aktivasyon sonucunda  $C_{3a}$  ile  $C_{5a}$  fragmanları açığa çıkar.  $C_{5a}$ 'nın kemotaktik gücü oldukça yüksek olarak bilinir. Çünkü bu fragman nötrofillerin gerek birbirlerine gerekse çeşitli yüzeylerle yapışmalarını artırır (47,64,72,76).

Kemotaktik sinyal, hücre hareketinde değişmelere de neden olur. İnternal stoplazma yönlendirilmiş hücre hareketine doğru dalgalanmalar yaparken, organellerde hızlı vibrasyon hareket gösterirler. Polarize pseudopod oluşumu ve stoplazmik dalgalanmalar aktin polimerizasyonu ile stoplazmik granüllerin mikrotubul ve mikroflamentlerin hücre merkezine doğru hareket eğilimleri artar. Tüm bu önemli değişmeler neticesinde hücreler sürekli olarak kemotaktik sinyale doğru hareket ederler.  $Mg^{++}$  ve  $Ca^{++}$  gibi iki değerli katyonlar mikroorganizma ile fagositik hücre arasındaki adhezyonu arttırmak süretiyle kemotaksise olumlu yönde etki ederler. Mononükleer hücrelerin davranışları benzerdir. Fakat olaylar biraz daha yavaş gelişir (16,47,76).

## **2- Oponizasyon ve Bağlanma:**

Fagositozun gerçekleşmesi için fagositlerin neye saldıracaklarını iyi bilmeleri gerekir. Bu olay, mikroorganizmaların hidrofobisitesine bağlı olabilir. Pnömokok ve stafilokok gibi bakteriler serum proteinleri ile kaplanmadan fagosite edilebilirler. Bununla birlikte serum proteinlerinin bazılarının mikroorganizmaları etkileyerek onu fagositoya daha yatkın hale getirmelerine "Oponizasyon" bu maddelere de "Oponin" denmektedir (11,16,47,97). IgG, IgG<sub>3</sub> ile kompleman sistemden  $C_{3b}$  ve spesifik antibadiler oponin olarak görev yaparlar.  $C_3$ 'ün aktivasyonu klasik veya alternatif yolla sağlanır. IgG' nin Fc komponenti ve  $C_{3b}$  molekülü için fagositlerin yüzeyinde reseptörler mevcuttur. Bu reseptörler yutma işlemini kolaylaştırmak için mikroorganizmaların yüzeyini kaplayan oponinler ile etkileşir. Makrofajların  $C_{3b}$  reseptörleri ,  $C_{3b}$  ile kaplanmış partiküllerin makrofaj yüzeyine

bağlanmalarına aracılık eder. Fakat bu partüküllerin yutulmasına aracılık ettiği görülmemiştir. PMN ve MN yalnızca C<sub>3b</sub> ile opsoninlenebilen Staphylococcus aureus ve E. coli'yi yutabilirler (10,11,16,21,82).

### **3-İngestion (Yutma):**

Yutma olayı partikül veya mikroorganizmalar opsoninlerle kaplandığı zaman fagosit yüzeyindeki spesifik reseptöre bağlanır ve partikülleri yutulmaya götüren bir seri değişimler başlatılır. Birleşme noktasında hücre zarı çukurlaşır. Kenarda meydana gelen pseudopotlarla materyal sarılır. Böylece fagosit membranı partikülü bir fagositik vezikül içinde tamamen sarıncaya kadar partikül etrafında hareket eder. Neticede hücre membranı ile çevrili bir vezikül oluşur. Buna fagozom denir (47,97). Fagozom periferde teşekül eder ve mikrotubuller vasıtası ile hücre merkezine doğru çekilir. Fagozom teşekkül ederken stoplazmik granüller hızla fagozomun yakınına hareket ederler, lizozomal granüllerin fagozoma nasıl yaklaştığı henüz bilinmemektedir. Ancak mikrotübül sistemi ile kontraktil proteinlerin (Aktin ve miyozin) bu olayda rol oynadıkları sanılmaktadır. Yutma olayı için enerji gerekir. Burada anaerobik glikolizisle oluşturulan enerjiye ve aktinomyozin mikroflamentlerin aktivasyonuna gereksinim duyulur (16,31,47).

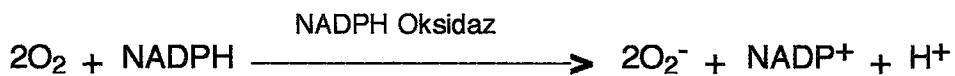
Fagozom, lizozom ile birleşerek fagolizozomu şekillendirir. Bu aşamada lizozomların içerisinde bulunan güçlü hidrolitik enzimler vezikül içerisine aktarılır. Buna "Degranülasyon" denmektedir. Fagozomda kalıntı ve artık partiküller varsa bakterisidal mekanizmalar gereksizdir. Fakat fagozomda mikroorganizma bulunuyorsa sindirilme (digestion) safhasından önce mikroorganizma öldürülerek inaktive edilmesi gerekmektedir (31,82).

#### 4- Hücre İçi Öldürme ve Sindirme Sistemleri:

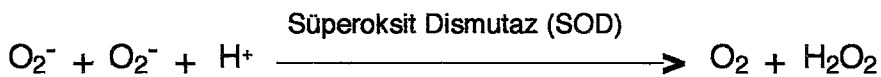
##### 4.1- Respiratory Burst:

Fagositik hücreler bir uyarıya maruz kaldıklarında hızlı oksijen ( $O_2$ ) tüketimine bağlı olarak metabolik aktivitelerinde bir artış izlenir. Metabolik aktivitedeki bu artışı ifade etmeye "metabolik veya respiratory burst" (RB) denmiştir (10,12,47,64,97). Respiratory burst kemotaktik hareketin başlangıcından itibaren uyarılır ve fagositoz sonuna kadar devam eder. RB olayı ;  $O_2$  tüketiminde belirgin bir artış ve bunun sonucu olarak süperoksit ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşumu ayrıca heksoz monofosfat (HMF) yolunun aktivasyonu ile karakterizedir (16,47). Başka bir deyişle, fagositoz ve degranülasyon sonucu oluşan olaylar dizisine (HMF yolunun hızlanması, hidroksil radikaller ( $OH^-$ ) singlet oksijen ( $^1O_2$ ), süperoksit ( $O_2^-$ ),  $H_2O_2$  oluşumu v.s.) RB denmektedir. Bu olayların tümü oksijene bağımlı fagositoz mekanizmalarını içerir (10).

Fagosit membranının uyarılmasından sonra membrana bağımlı enzim NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) oksidaz aktive olur. Bu enzim NADPH'ı elektron vericisi olarak kullanır ve oksijeni süperoksit indirger (68).

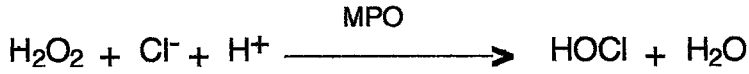


Oluşan  $O_2^-$ , ya bir elektron alarak yada bir elektron kaybederek oksidan veya redüktan bir ajan gibi fonksiyon yapabilir. İki  $O_2^-$  molekülü etkileştiği zaman bunlardan biri oksitlenir diğeri ise indirgenir (12,47,97).

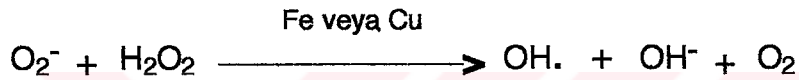


Bu reaksiyon kendiliginden oluşabildiği gibi SOD tarafından da katalizlenebilir. Spontan dismutasyon nötr veya alkali pH' da yavaş,

asidik pH'da (pH=4.8) daha hızlıdır (10). Oluşan  $H_2O_2$ , PMN'lerde myeloperoksidaz (MPO) reaksiyonu için ya bir substrat gibi hizmet görerek klorid iyonlarının yüksek bakterisitik etkiye sahip hipokloride dönüşmesinde kullanılır.

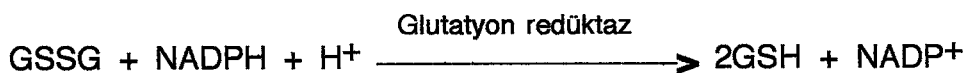
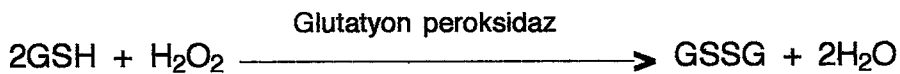


Yada yüksek reaktiviteye sahip hidroksil ve singlet oksijen radikallerine indirgenir (97).



Eser elementler bütün bu reaksiyolar için oksidasyon-redüksiyon katalisti olarak fonksiyon yapabilirler (12,47,64,85,97).

HMF yolunun aktivasyonu RB sırasında artan  $NADP^+$  ileidir. Bu  $NADP^+$ 'nin iki kaynağı vardır. Biri  $O_2^-$  oluşturan reaksiyondur ki burada NADPH elektron vericisidir. Diğeri ise Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ile Glutatyon redüktazdır. Bu sistem RB sırasında  $H_2O_2$ 'nin detoksifikasyonundan sorumludur.  $H_2O_2$ , GSH-px tarafından katalizlenen bir reaksiyonla redükte glutatyon (GSH) okside edilerek zararsız hale getirilir. Okside glutatyon (GSSG) ise daha sonra Glutatyon redüktaz ile GSH' a döner ve burdan  $NADP^+$  üretilir (4,10,12).

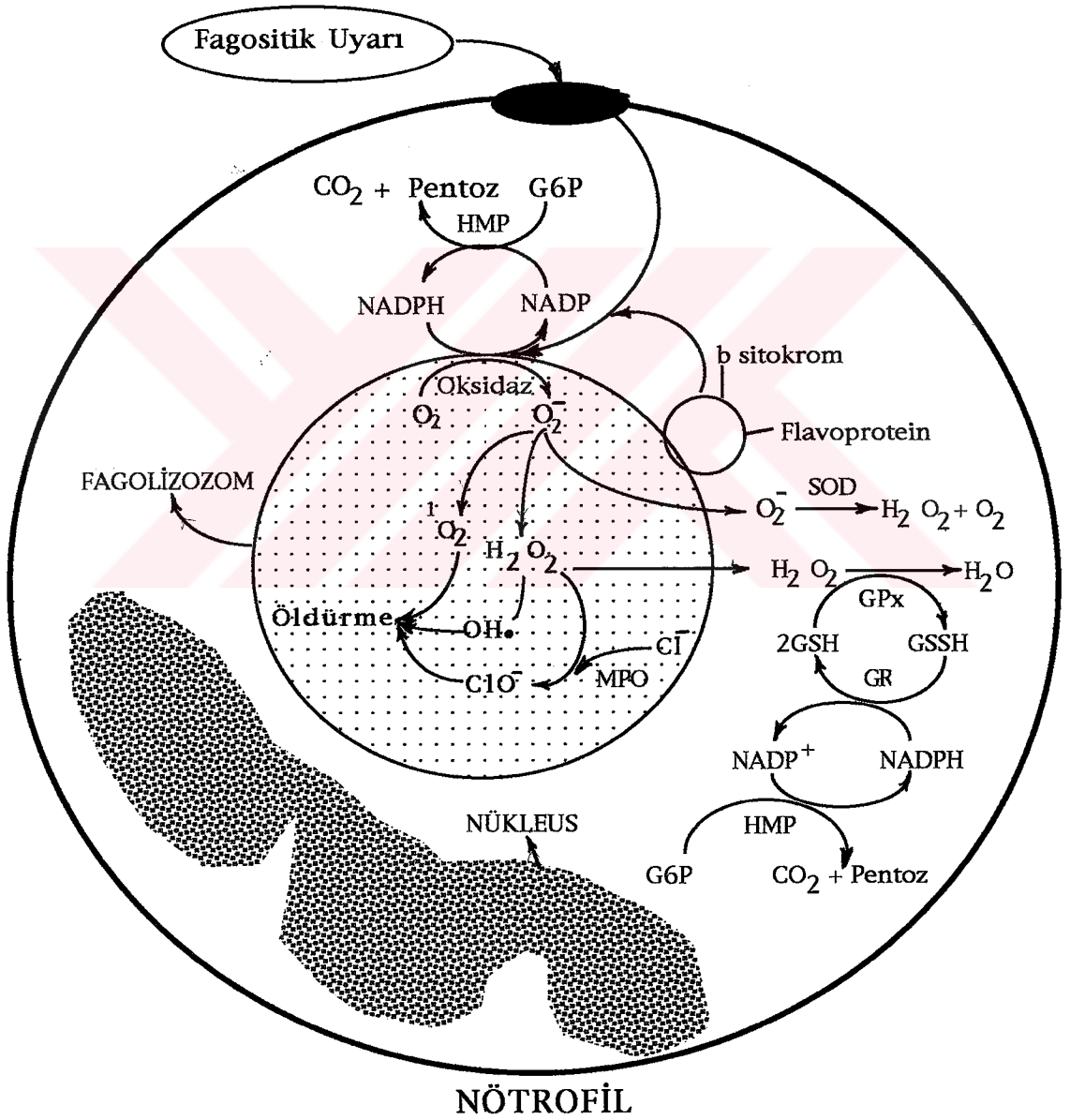


HMF yolu aktive edilmesiyle glukoz, CO<sub>2</sub> ile 5 karbonlu şekere oksitlenir. Bu esnada NADP<sup>+</sup> NADPH' a çevrilir. NADPH da önce belirtildiği gibi NADPH-oksidaz sisteminde elektron vericisi olarak görev yapar. NADPH-oksidaz, plazma membranına lökale olmuştur ve plazma membranının dış kısmı fagositoz esnasında vakuol membranının iç kısmında kaldığı için reaksiyon ürünleri fagositik vakuole veya ekstraselular sıvıya boşalmış olur. Stoplazmaya sızan O<sub>2</sub><sup>-</sup> ler SOD ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' ye indirgenir. Stoplazmik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalaz ve daha önce reaksiyonu verilen Glutatyon peroksidaz ve redüktaz enzimleri ile detoksifiye olur. MN fagositlerin uyarılması esnasında tüketilen O<sub>2</sub>' nin büyük bir kısmı PMN' lerin tersine mitokondrial RB aracılığı ile metabolize edilmektedir (46).

RB sürecinde, şu olaylarda artış gözlenir: 1- O<sub>2</sub> alınımının artışı, 2- O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretiminin artışı, 3- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretiminin artışı ve 4- HM yolu aktivitesinin artışı olarak özetlenebilir. RB olayının amacı mikroorganizmayı yok etmeye çalışan fagositlerin gereksinimi olan enerjiyi sağlamaktır. Bunun için kullanılan oksidasyon ajanları ise MPO, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'dir (10).



**Şekil 1:** Oksijene Bağımlı Bakteri Öldürme Mekanizmaları (Zinkl (97)' den alınmıştır).





## 4.2- Antimikrobiyal Sistemler:

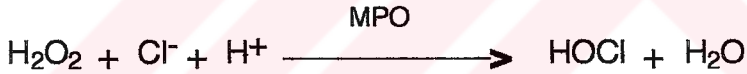
Fagositler tarafından mikroorganizmaların öldürülme mekanizmaları iki ana grupta incelenebilir (16,22,64,75,97).

1- Oksijene Bağımlı Mekanizmalar

2- Oksijene Bağımlı Olmayan Mekanizmalar

### 4.2.1- Oksijene Bağımlı Mekanizmalar:

Oksijene bağımlı sistem, myeloperoksidaz (MPO)' a bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki kısımdan oluşur. Bunlardan MPO vasıtasıyla olanlar nötrofillerde, diğeri ise makrofajlarda (MN) meydana gelir (65). MPO, istirahat halinde PMN ve MN'lerin auzurofilik granüllerinde bulunan ve molekül ağırlığı 150000 (dalton) olan bir hemoproteindir (47,51). Bu enzim degranülasyon ile fagositik vakuollere geçer. Myeloperoksidaz; vakuollerde halit (halojen madde ihtiva eden bir bileşim) iyonları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin mevcut olduğu durumlarda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından Cl<sup>-</sup> 'nin oksidasyonu sonucu hipoklorit iyonlarının teşekkül edilmesi olayını katalize eder.



Halit oluşumunda halojen olarak I<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup> ve Cl<sup>-</sup> kullanılabilir. En etkin bakterisit madde I<sup>-</sup> olmasına rağmen, organizmada en çok bulunan Cl<sup>-</sup> dir. Fagositik hücrede, RB esnasında önemli miktarda oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve Cl<sup>-</sup> bulunur. Bu maddeler MPO aktivitesi için gereklidir. MPO fagositik vakuollerde mevcut olan asit pH'da maksimum aktivite gösterir (12,31,47,64,65).

Bu enzim fagositik hücreler tarafından hücre içi öldürme (mikrobisidal) fonksiyonunda oldukça önemli aktiviteye sahiptir. Bakteriler halit iyonlarının bulunduğu ortamda düşük konsantrasyonda MPO ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile inkübe edilirse bakterisidal aktivitede önemli artış gözlenir. Halbuki bu faktörler tek başına önemli bir bakterisidik etki oluşturamazlar. Bu sistemde birçok güçlü mekanizma vardır. Bunlar halit iyonlarının mikroorganizmalarda hasar

meydana getirmesi, bakteri hücre duvarının halojenasyonu ve toksik aldehitlerin salınması ile amino asitlerin dekarboksilasyonunu içerir (47,64).

Fagositlerdeki MPO eksikliği, bakterisidal aktivitenin yavaş şekillenmesine rağmen fagosite edilen mikroorganizmaların çoğu sonunda öldürülür. Nitekim Koneko (97), MPO yetersiz insanlarda şiddetli bakteriyel enfeksiyonlara rastlanılmadığını, öte yandan piliçlerde MPO yetersizliğinde tamamen bakterilerin tahrip edildiğini bildirmektedir. Oksijene bağlı sistemlerde MPO yokluğunda da fagositlerin fonksiyonu devam edebilir.  $H_2O_2$  yüksek kontrasyonda antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Ayrıca demir ( $Fe^{+3}$ ) ve halit iyonlar nonenzimatik yolla bakterilerin öldürülmesinde rol oynayabilirler. Süperoksit,  $H_2O_2$ ' ye göre zayıf bakterisidal aktiviteye sahiptir. Diğer taraftan  $H_2O_2$  süper oksit ile reaksiyona girerek hidroksil radikalleri oluşturabilirler. Bu radikaller fagozom membranında lipit peroksidasyonuna uğrar ve bakteriyel öldürücü aldehitlere dönüşürler. Fakat fagozomda membran peroksidasyonu sonucu membran harapladığından  $O_2$  metabolitleri hücreye yayılabilirler. Hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ) ve  $H_2O_2$  bakteriyel öldürücü etkileri yanında, hücreyi haraplayıcı ve öldürücü etkileri de vardır. Nitekim, nötrofiller fagositik aktivitelerinden kısa bir süre sonra ölürler. Hücrenin yıkımı sırasında açığa çıkan serbest radikaller, oksidan ve antioksidan enzimlerin dengesine göre çevreye zarar verirler, örneğin  $H_2O_2$  nin  $H_2O$  molekülüne dönüşümü veya yıkılması bunların zararlı etkisini azaltır (10,31,65,82,85).

#### **4.2.2- Oksijene bağımlı olmayan sistemler:**

Bu sistemler, RB olayından bağımsız bakterisidal güce sahip sistemlerdir. Bunlar arasında lizozomlar, laktoferin (Demir bağlayan proteinler), katyonik proteinler ve ortamın asiditesi sayılabilir (4,47,75,85,97).

Vakuolün asiditesi de bir çok mikroorganizma için bakteriostatik veya bakterisidal olabilir. Bundan dolayı asidifikasyon bazı antimikrobiyal enzim sistemlerin (MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Halid, Lizozim) fonksiyonlarını artırdığı görülmüştür.

Lizozim; düşük molekül ağırlıklı kationik bir proteindir. Bu enzimler bazı bakteri türlerinin mukopeptit hücre duvarına etki ederek onların lizisini sağlar. Bu enzim keza komplement ve antibadi veya kation şelatorlarıyla birleşerek etki eder. Bunun sonucunda bakteri lizisine sebep olarak, bakteri tahribinde rol oynar (22,30,47,75,76).

Laktoferin; demir bağlayan bir proteindir. Bakteri yaşamı için esansiyel olan Fe<sup>+3</sup> bağlaması sonucu mikroorganizmanın gelişimini inhibe eder, Fe<sup>+3</sup>'ün laktoferin tarafından bağlanması hem asidik hemde alkali ortamda meydana gelebilir (16,97).

Kationik proteinler; argininden zengin proteinlerdir bunlar bakterilerin yapısal bütünlüklerini bozmadan sadece çoğalmalarına engel olurlar (97,75).

PMN'ler çeşitli proteaz ve hidrolazları da içerirler. Bu enzimler mikrobisidal fonksiyondan ziyade sindirme işleminde görev alırlar. Mononüklear hücrelerde (Makrofajlar) laktoferrin ve kationik proteinler bulunmaz. Sindirim tamamlandıktan sonra rezidualbodi olarak adlandırılan büzülmüş vezikül ya stoplazmada kalır yada ekzositoz ile hücre dışına atılır (30,47,51,31,76).

## E VİTAMİNİ

Vitaminler, insan ve hayvanlarda fizyolojik fonksiyonların işleyişini sağlamak için yeterli düzeyde alınmaları gerekir. Çoğu organizmada sentezlenemeyen özellikle yağda eriyen vitaminler (A,D,E,K) dışarıdan besinlerle alınması zorunlu olan biyo-katalizör maddelerdir (3,10,14).

İnsanlar dahil bütün hayvanlar için esansiyel bir madde olarak kabul edilen, bitkisel orjinli olan E vitamini tokoferoller ve tokotrienoller (Tokoller) olarak bilinen, yağda eriyen bileşiğin genel adıdır (57,63,73).

Günümüzde, doğada E vitamini' nin sekiz adet formu olduğu bunların dördü tokoferol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ ) diğer dördü de tokotrienoller ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ ) olmak üzere iki gruba ayrıldıkları belirlenmiş bulunmaktadır (57,63,70).

### Özellikleri ve yapısı:

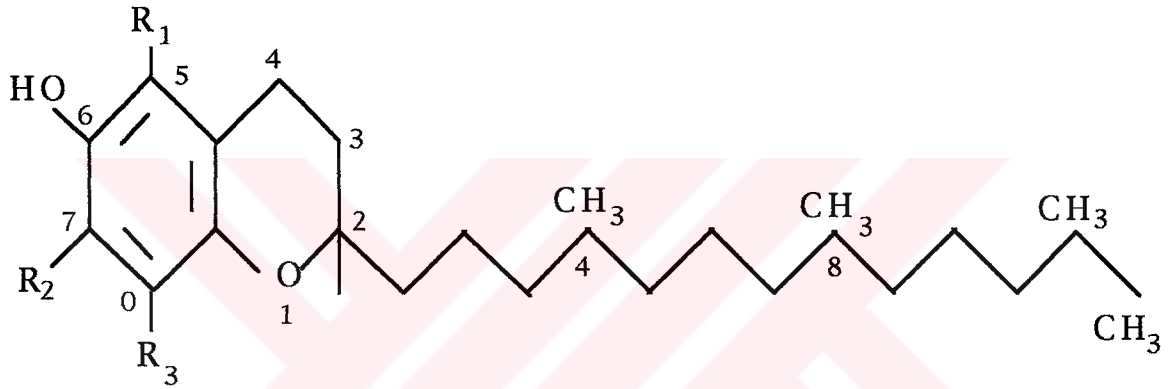
Tokoferoller, oda sıcaklığında açık kahverengi veya sarı renkte yapışkan kıvamda, ancak yüksek saflıkta renksiz ve kokusuz olan yağlardır. Suda çözünmezler, alkol, hekzan, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünürler. Alkali, ısı (200°C ve daha yüksek) ve ışığa özellikle ultraviyole'ye karşı dayanıksızdır. Buna karşın asitlere karşı dayanıklıdır. Vitaminlerden A, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C ve K ile ayrıca folik asit, estradiyol, testosteron, çinko, somatotropik hormon ve oksidantlar ile de antagonisttirler (56,57).

Alfa tokoferol mükemmel doğal antioksidant olan bu vitamin vücutta ve gıdalarda karoten ve diğer okside olabilen maddeleri oksidasyona karşı korur (57). Serbest hidroksil gurubu içerdiklerinden eter ve esterler yapabilirler (3). Oksijen mevcudiyetinde ısı, ışık, nem, yağların acılaşması, alkaliler, demir ve bakır gibi bazı metaller E vitamini' nin oksidasyonunu hızlandırır ancak oksijen mevcut değilse ısı, ışık ve alkalilere karşı kısmen stabilitesi artar (27).

Bilinen en önemlileri ve en aktif antioksidant etki gösterenleri sırası ile  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  tokoferollerdir. Tokoferoller kroman (2 metil-6 kroman) türevleridirler.

Kroman bir benzen ile bir piran halkasından oluşmuştur (3). Tokoferol gruplar kendi aralarında halkalarda taşıdıkları metil gruplarına göre farklılık gösterirler. Tokoferol ile Tokotrienoller arasındaki fark sondaki yan zincirlerin doymamış olmalarına bağlıdır. Tokoferoller doymuş, tokotrienoller ise doymamış yan zincirlere sahiptirler(57,70).

**Şekil 2:** Tokoferolun kimyasal yapısı (70).



**Bulunduğu yerler:**

E vitamini, bitkisel ve hayvansal organizmada bulunmasına rağmen (3) bu kaynaklardaki miktarları oldukça değişiklikler gösterir. Vejetasyon döneminin başındakilerde daha fazla olmak üzere, bütün yeşil yemlerde bol miktarda bulunur (88). Gıda maddeleri içinde en çok ve daha aktif formu  $\alpha$ - tokoferoldür. Bitkiler tarafından tokoferol ve tokotrienoller büyük oranda sentez edilmekte olup, bunlar başlıca yeşil yapraklar ve tohumların lipit içeren fraksiyonlarından serbest alkollerden meydana gelirler (57,63).

E vitamini bitkilerin herhangi bir bölümünde bulunabilir. Fakat en fazla meyveler ve tohumlarda bulunur. Bitkilerin yaprağı gövdenin 20-30 katı fazla vitamini E ihtiva eder. Buğdaygil ve baklagillerdeki tokoferol miktarları farklılıklar göstermesine rağmen genellikle hayvansal ürünlerden daha fazla E

vitamini içerirler. Ayrıca yemlerin içerdikleri tokoferol miktarı bitkilerin olgunlaşması, hasat edilmesi yemlerin hazırlanma metodları ve depolanma sürelerine göre de değişiklikler gösterir. Yemlerin, yapay kurutma veya silaj suretiyle konserve edilmelerinde E vitamini kaybı çok düşük olduğu halde güneşte kurutulan otlarda bu kayıp % 90' a kadar çıkmaktadır (70).

### **Absorbsiyonu, Taşınması ve Depolanması:**

E vitamini' nin absorbsiyonu yağların sindirimi ile ilişkilidir (57). Yağlar ve yağda eriyen diğer vitaminler (A, D, K) ile aynı tarzda ince barsaklardan ve özellikle duodenum ve jejunumun proksimal kısmından absorbe olmakta ve absorbsiyonun ince barsak membranında pasif diffuzyonla gerçekleştiği sanılmaktadır (3,27,39,86,94).

Yağlar ve safra tuzları, E vitamini' nin absorbsiyonunu kolaylaştırır (3,57,35). Safra tuzları bu etkilerini deterjan özelliği yardımı ile gerçekleştirirler. Esterifiye tokoferoller barsaklardan safra tuzları ve pankreatik enzimler (muhtemelen pankreatik lipaz) ile hidrolize edilirler. Sonuçta meydana gelen ürün, serbest tokoferoldur (27,57,94). E vitamini, kolesterol yada vitamin A' nın tersine emilim süresince yeniden esterleştirilmez. Gerek serbest ve gerekse ester şeklinde alınsın vitamini E serbest alkol formuyla emilir ve intestinal kanalda bulunan lenf damarlarına geçer ve buradan lenf yoluyla genel dolaşıma katılır (39,57,74,89).

Tokoferoller şilomikronla ve spesifik olmayan çok düşük dansiteli lipoproteinlere (LDL, VLDL, trigliserit) bağlı olarak lenf dolaşımı yolu ile kan dolaşımına girerler. Genel dolaşıma sadece serbest formda giren tokoferoller plazma proteinlerine muhtemelen  $\beta$ -lipoproteinlere ve globulinlere bağlanarak öncelikle karaciğere, sonra da diğer ekstrahepatik dokulara kalp, böbrek, genital organlar, hipofiz bezi ve yağ dokularına taşınır. Özellikle bu organlar ve dokularda birikirler (39,63,94). E vitamini hemen hemen tüm dokularda depo

edilmesine rağmen yüksek konsantrasyonları karaciğer, plazma ve yağ dokularda bulunur (63). Kan dolaşımı ile vücudun tüm doku ve organlarına taşınan E vitamini, hücrelerin özellikle mitokondri, mikrozosom, nükleus ve plazma membranı gibi hücrenin membran ihtiva eden yapılarında yoğunlaşırlar (39). Eritrosit membranında bulunan E vitamini ile plazma proteinlerine bağlı E vitamini arasında hızlı bir yer değişimi vardır (74,80).

Barsaktan en hızlı  $\alpha$ -tokoferoller sonra sırasıyla  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  emilir ve depo edilir (63,96) Tokoferollerin absorpsiyonlarının önce yavaş başladığı ancak ilk bir kaç saat içinde maksimum düzeye ulaştığı, ağız yoluyla alındıktan sonra 6. saate hem plazma hem de karaciğer konsantrasyonları maksimum değerlerine ulaşarak uzun bir süre bu düzeylerini korur (27,94,95,96). Ayrıca Fagositik hücre olan nötrofillerde E vitamini miktarı trombositlerden 10, alyuvarlardan 35 misli daha fazla olduğu ifade edilmiştir (27).

Fizyolojik durumlarda besinlerle alınan tokoferollerin % 20-30 kadarı absorbe edilmekte ancak fazla miktarlarda E vitamini alındığı zaman bunun sadece % 1-5 kadarı değerlendirilmektedir. Şayet organizmada E vitamini yetersizliği bulunuyorsa alınan E vitamini' nin % 50-75 arasında değişen oranlarda değerlendirildiği kaydedilmektedir (27,95).

E vitamini depolanma miktarı yaş ve seks ile ilgili olarak değişir. Hayvanların yaşı ilerledikçe depolanma kapasiteleri artar. Genellikle dişi hayvanların çoğu organları daha fazla miktarlarda E vitamini içerirler (39).

### **Mobilizasyonu ve Atılımı:**

E vitamini tüketilme oranının dokular arasında farklılık gösterdiği, en fazla plazma olmak üzere bunu karaciğer, kalp, iskelet kasları ve yağ dokunun izlediği belirtilmiştir. Araştırmacılar 6 hafta süreyle ratlardaki  $\alpha$ -tokoferol tüketimini şöyle belirlemişlerdir; genç ve erişkin ratlarda plazma, karaciğer ve kalp  $\alpha$ -tokoferol konsantrasyonları 1-2 hafta içinde başlangıç değerlerinin yarısına



yada daha ařađısına dūřer ve sonraları daha yavař bir dūřūř meydana gelir.  $\alpha$ -tokoferolūn vūcut depoları normal deđerinin yarısına yada daha ařađısına dūřtūđū zaman plazma, normal konsantrasyonunu muhafaza edemez (39).

Karaciđer ve kalpte depolanan tokoferolūn iki hafta içinde bařlangıç deđerinin yarısına dūřer ve diđer yarısı ise uzun bir zaman peryodunda yavař yavař dūřer. Karaciđer  $\alpha$ -tokoferolūnūn 1- Labil, 2- Nonlabil olmak ūzere iki bōlūmden oluřur. E vitamini karaciđerde,  $\alpha$ -tokoferilquinon' a dōnūřtūkten sonra bir kısmının glukronik asitle konjuge olduđu ve daha sonra safra vasıtası ile feçesle atıldıđı,  $\alpha$ -tokoferilquinon' un diđer kısmı da bōbreklerde  $\beta$ -oksidasyon ile  $\alpha$ -tokofenonik aside dōnūřtūđū ve idrarla atıldıđı bildirilmiřtir (27). Ayrıca E vitamini' nin atılımının en būyūk yolu safra ve dolayısıyla dıřkı olduđu, İnsanlarda % 65-80 feçesle atıldıđı bildirilmektedir (57).

### **E Vitamini' nin Fizyolojik Fonksiyonları:**

E vitamini' nin tūm fonksiyonları bilinmemesine rađmen yetersizliđi durumunda labarotuar ve çiftlik hayvanlarında bařta iskelet ve kalp kasları olmak ūzere karaciđer, sinir sistemi, genital organlar ve kan hūcrelerini de içine alan deđiřik organ ve dokularda yetersizlik derecesine gōre çeřitli bozuklukların gōrūlmesi, çeřitli fizyolojik fonksiyonlara sahip olması gerektiđini dūřūndūrmektedir (70,73,88).

E vitamini' nin bilinen en ūnemli fonksiyonlarından biri antioksidant veya serbest radikal giderici olmasıdır. Bundan dolayı biyolojik sistemlerde ūzellikle hūcre membranında, fosfolipitler içinde oluřan doymamıř yađ asitlerinin oksidasyonunu ūnlemektedir (57,63,70,73,80,89). Bu ūzelliđinden dolaydır ki; E vitamini ūzellikle fagositik ve diđer hūcre membranlarının korunması için ūnem arz edebileceđi ifade edilmiřtir. (63,89). Oksidasyon sırasında oluřan, sūperoksit, diđer radikaller ve peroksitler membran enzimleri (Cytochrome P-450, Xnithine oxidase) tarafından kısmen katalizlenir ve hidrosil serbest



radikaller oluşur. Bu serbest radikaller daha sonra peroksidasyon ile mitokondrial, mikrozomal ve hücre membranlarındaki fosfolipidlerden olan doymamış yağ asitlerini okside eder (63). Sonuçta bu membranların yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve hidroperoksitler oluşur. E vitamini' nin fenol halkası üzerindeki hidroksil grubu, bir proton vermek suretiyle peroksit ve hidroperoksitleri doyurur ve böylece peroksit radikallerinin aktivitelerini azaltır. Böylece biyolojik otooksidasyon için başlatıcı olan bu reaksiyon, bahsedilen indirgeme ile hemen inhibe edilir ve peroksit oluşumu engellenmiş olur (63,73,96). Bazı hayvanlarda görülen müküler distrofi semptomları muhtemelen E vitamini yetersizliği sonucu hücre membranının tahrip olmasındandır (63).

Eritrositlerdeki tokoferolün tümü membranında lokalize olmuştur. Bu lokalizasyonu hücrelerin hemolize karşı korunmasında önemli bir fonksiyon üstlenmekte, E vitamini yetersizliği durumunda eritrositlerin hemolizi artmaktadır.. Buna karşılık in vivo ve in vitro E vitamini ilavesi eritrositlerin hemolizini azaltmaktadır (3,43,70,73).

Tokoferollerin arşidonik asit, lökotrienler, porostoglandinler ve prostosiklinlerin metabolizmasında rol oynadığı, aynı zamanda DNA sentezinde de rolü olduğu ileri sürülmüş, E vitamini düzeyi yetersiz olan hayvanlarda ksantin oksidaz ve kreatin kinaz enzimlerinin arttığı kaydedilmiştir (70).

E vitamini' nin sterilite üzerindeki etkisi sadece deney hayvanlarında gözlenebilmiştir. Ruminantlardaki etkisi kesin olarak aydınlatılamamıştır. Ancak E vitamini' nin karaciğerden sonra özellikle hipofiz bezi, böbrek üstü bezi, gonatlar ve uterusu depolanması bu organların üremedeki fizyolojik fonksiyonları açısından önemlidir (95).

$\alpha$ -tokoferol biyolojik membranların yapısal komponentlerinin şekillenmesi ile ilişkisi olabilir. Böylece membran fosfolipitlerinin yapısı

üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca  $\alpha$ -tokoferol, fibroblast fosfolipitlerinde linoleik asitten araşidonik asit oluşumunu stimüle etmekte ve araşidonik asitten prostoglandin E sentezlenmesinde belirgin uyarıcı bir etkisi olduğu bildirilmektedir (57,89).

E vitamini' nin diğer fonksiyonları şunlardır; E vitamini trombosit agregasyonunun bir inhibitörüdür. Trombosit agregasyonunda gerekli olan prostoglandinlerin sentezlenmesi için ihtiyaç duyulan araşidonik asidin peroksidasyonunu inhibe etmesiyle önemli bir rol oynayabilir. Trombosit agregasyonunda prostoglandin E tarafından inhibe edilir (89).

E vitamini' nin bu fonksiyonlarına ilaveten; Normal fosforilasyon reaksiyonlar, özellikle kreatin fosfat ve adenizin fosfat gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinde, askorbik asidin sentezinde, ubiquinone sentezinde, sülfüramino asit metabolizmasında ve vitamin B<sub>12</sub> metabolizmasında rol aldığı bildirilmiştir (57).

### **Yetersizliği:**

Çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda E vitamini eksikliğine bağlı bozukluklar çok farklıdır. Laboratuvar hayvanlarındaki E vitamini eksikliği, üreme sistemlerinde bozukluklar oluşturur. Erkeklerde testis atrofi, testikular dejenerasyon ve sterilite (seminifer tubullerin dejenerasyonu ve spermatogenezis yetersizliği) dişilerde ise ; ovaryum fonksiyonunun normal kalmasına rağmen uterus fizyolojisinin bozulması sonucu fetal rezorbsiyon yada ölü yavru doğmalar meydana gelir (3,27,57,63). Ayrıca karaciğer nekrozu, gelişmede yavaşlama, musküler distrofi, böbreklerde tubuler dejenerasyon ve embriyoda vasküler dejenerasyonlar şekillenmektedir (63,70,73).

Yetersiz E vitamini alan ratların lizozomlarının frajilitelerindeki artış nedeniyle bunlardan serbestlenen hidrolitik enzimlerin dokularda ayrı ayrı substratlara etkiyerek nükleik asit, protein, karbonhidrat, mukopolisakkarit ve

öteki hücre komponentlerinin genel bir yıkımına neden olduğu bunun sonucunda da tipik bir kas distrofisine, özellikle vücudun savunma sisteminde rol oynayan fagositik hücrelerin tahribinden dolayı fagositik aktivitede bozukluklar ve ayrıca immun cevapta yetersizlikler görüldüğü bildirilmiştir (74,89).

Yetersiz E vitamini alan koyun ve ineklerin sık sık zayıf kuzu ve buzağı doğurdukları bunların nutrisyonel musküler distrofiye (NMD) eğilimli oldukları, bu nedenle özellikle genç hayvanlarda zayıflık ve anormal duruş şekli görüldüğü (95,96), kalp ve diyaframının harabiyeti sonucu solunumun sıklaştığı, kalp fonksiyonlarında bozulma nedeniyle EKG' de değişikliklerin belirlendiği, hipofiz bezi hormonlarının ( tirotropik ve gonadotropik) azaldığı , gamma-globulin düzeyinin düştüğü dolayısıyla organizmanın direncinin azaldığı bildirilmiştir (95).

İnsanlarda uzun süren E vitamini yetersizliği, eritrositlerde hemoliz artışı, pulmoner hipertansiyon, immun cevapta ve fagositik fonksiyonlarda azalma (86), düşük doğum ağırlığındaki bebekler, iritabilite, hemolitik anemi, yeni doğanların kalbinde intraventriküler kanama, eritrositlerin yaşama sürelerinde kısalma ve frajlitelerinde artışa neden olmaktadır (43,73) .

İnsan ve hayvanların E vitamini nin yüksek dozlarını iyi tolere ettiği bildirilmiştir. Vitamin A ve D ile karşılaştırıldığında E vitamini nin nispeten toksik olmadığı görülmüştür (57,63). Fakat büsbütün istenilmeyen etkileri de yok değildir. Ratlarda, tavuklarda ve insanlarda hipervitaminosis E ile yapılan çalışmalarda diyetle 1000-2000 İ.Ü./kğ ilave edilmesinin maximum tolere edilme seviyesi olarak bildirilmiştir (57). Yüksek dozlarda alınan E vitamini civcivlerde (2200 İ.Ü./kğ tokoferol) hematokrit değer ve hücre solunum aktivitelerinde azalma, protrombin zamanında uzama ayrıca kan tablosunda belirgin bir retikülozis eğilimi görülmektedir (37).

İnsanlarda 600-800 mg/kg/gün  $\alpha$ -tokoferol dozunda hiçbir problem tesbit edilmemiştir. Bununla beraber sadece iki vakadan birinde tiroid hormon seviyesinde bir azalma, diğesinde ise serum trigliserit seviyesinde bir artma gözlenmiştir (63). Ayrıca uzun süre yüksek dozlarda E vitamini alınması kan basıncında artış, mide bulantısı, allerji ve demir metabolizmasında bozukluklara neden olmaktadır (56).

Küçük hayvanlar ve insanlarda E vitamini ihtiyacı iyi bilinmemektedir bununla beraber E vitamini gereksinimi diyetle bulunan doymamış yağ asitleri (PUFA) (57,63) , antioksidanlar, sülfür, amino asit ve Se düzeylerine göre değişir. Diyetle doymamış yağ asitleri, okside edici ajanlar, vitamin A, karatenoitler ve iz elementler seviyelerinin artması ile E vitamini gereksinimi artar. Buna karşın yağda çözünen antioksidanlar, sülfür, amino asit ve selenyum seviyelerinin artması E vitamini gereksinimini azaltır.

## SELENYUM

Selenyum (Se) insan ve hayvan organizmalarının normal gelişmesi için düşük konsantrasyonlarda bile olsa gerekli olan esansiyel iz elementlerden biridir (71,36) Se ilk olarak 1918 yılında İsveçli kimyacı Berzelius tarafından sülfirik asit artıklarından keşfedilmiştir (66). Uzun süre toksik madde olarak kabul edilen Se' nin canlı organizmasında ihtiyaç duyulan bir element olduğu 1957' de ilk defa Foltz tarafından karaciğer dejenerasyonun oluşmasında Se yetersizliğinin rol oynadığının anlaşılmasıyla keşfedilmiştir (32 ).

### **Bulunduğu Yerler:**

Selenyumun asıl kaynağı toprak ve buna bağlı olarak ta bitkilerdir. Bu nedenle besinler ve yemlerdeki Se konsantrasyonunu, topraktaki Se yoğunluğu ve Se' nin bitkiler tarafından kullanılabilmesi değiştirmektedir. Bundan dolayı bazı bölgelerdeki bitkiler ve bunları yiyen hayvanlar yeterli Se

düzeylerine sahipken, bazı yörelerde de yetersizlik belirtileri görülebilmektedir. Se, bitkilerde selenomethionin, Se-metil-selenomethionin, selenosistin ve selenosistein şeklinde bulunmaktadır (1,32,53). Astragalus ve stanleyus gibi Se akümülatörü adı verilen bu bitki türleri 120-1000 ppm kadar Se içerirler. Se biyolojik siklus göstererek topraktan bitkilere, hayvanlara ve dolayısıyla insanlara geçer ve organizmada eser miktarda bulunur (66,79).

Toprakta vanadyum, kobalt, çinko ve özellikle sülfatların bulunması mevcut Se' den canlıların yararlanma oranını düşürmekte ve çorak topraklarda Se miktarı çok düşük düzeylerde bulunmakta ve bu bölgelerde yaşayan hayvanlarda Se yetersizliği görülmektedir (7).

Se bakımından zengin olan yiyeceklerden; deniz ürünleri, organlar ve kaslar 0.01 µg/gr, tahıl ve tahıl ürünleri 0.2-0.02 µg/gr, sebze ve meyvalar 0.011µg/gr' den az Se içerirler. Ayrıca bitkilerin başakları yapraklarından, kırlardaki bitkiler yayladaki bitkilerden, kurak ve sıcak mevsimlerde büyüyen bitkiler soğuk ve yağışlı mevsimlerde büyüyen bitkilere oranla daha fazla miktarda Se içerdikleri bildirilmektedir (53,60).

### **Absorbsiyonu, Taşınması ve Depolanması:**

Se' nin emilimi ekseriyetle ince bağırsaklardan özellikle duodenumdan aktif transportla olduğu, bununla beraber rumen, abomasun, mide ve ileumda emilim olmaktadır (28,32,53). Monogastriklerde Se' nin eriyebilir (organik) formları selenit, selenosistein ve selenomethionin diğer formlara (inorganik Na selenit formu gibi) oranla %80' den daha yüksektir. Organik formları monogastrik ve ruminantların mide ve rumeninde emilime uğramazlar (53,91). Ruminantlarda emilim; muhtemelen rumende Se'nin erimeyen formlarına indirgenmesinden dolayı monogastriklere kıyasla %40 daha azdır. Monogastrik türler ve ruminantlarda rasyonla alınan Se' nin dokuların gereksinimlerine göre değerlendirildiği (28), ancak monogastriklerin ruminantlara göre Se' den daha

fazla yararlandığını bu amaçla yapılan çalışmada; ağızdan verilen Se' nin (selenit formu) domuzlarda %77, koyunlarda ise %29 oranında değerlendirildiği bildirilmiştir (32).

Element halindeki Se ve selenyum sülfid yok denecek kadar az miktarda absorbe olurlar (53,56). Diyetle organik formda alınan yada organizma tarafından organik forma dönüştürülen Se' nin emilimi daha kolay olduğu gibi, absorpsiyon oranı da oldukça artmaktadır (28,32). Ayrıca rasyonda bulunan vitamin E, A ve askorbik asit miktarları da Se absorpsiyonunu artırmaktadır (32).

Selenyum absorpsiyondan sonra hızlı bir şekilde tüm vücut organ ve dokularına dağılır (53). Se için taşıyıcılar kesin olarak tanımlanmamış olmakla beraber plazma proteinlerine bağlanarak taşınır, taşındığı ve ulaştığı dokunun yapısına girererek bu dokunun bir parçasını oluşturduğu kaydedilmektedir (58,91). Plazma proteinlerinden albumine,  $\alpha$ -1 ve  $\alpha$ -2 globulinlere ve  $\beta$ -lipoproteinlere bağlanarak tüm vücut dokularına özellikle böbrekler, karaciğer, kalp, alyuvar, akyuvar, pankreas dokularına ve hemoglobin globulinine taşınırlar (59,91). Ratlarda albumine, insanlarda LDL' ye bağlı olarak taşınır (28).

Se' nin yüksek konsantrasyonları böbrek ve karaciğerde bulunur (0.2-0.8  $\mu$ g/g). İskelet kasları ise yaklaşık ortalama 0.2  $\mu$ g/g Se konsantrasyonuna sahip ve ayrıca kaslar tüm vücudun total Se miktarının %50' sini içerir. Kandaki Se miktarı diyetteki miktarına göre önemli ölçüde değişir. Kandaki Se seviyesi insanda 0.02-7.0  $\mu$ g/ml, koyunda 0.01-3.0  $\mu$ g/ml arasındadır. Plazma seviyesi 0.08-0.12  $\mu$ g/ml arasında normaldir. Diğer yandan plazma proteinlerine özellikle albumine bağlanarak taşınan Se için hemoglobin, myoglobin, sitokrom-C özel proteinler olarak, aldolaz ve myosin özel enzimler olarak bildirilmiştir (59 ). Ayrıca son yıllarda Se' nin Glutathion peroksidaz (GSH-px)' in yapısına girerek onun aktif kısmında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (32,58,66).



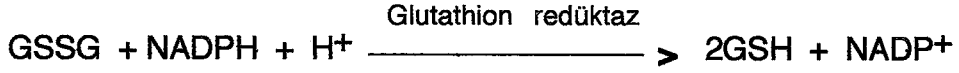
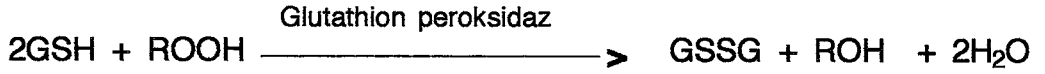
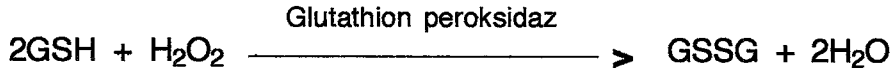
### **Mobilizasyonu ve Atılımı:**

Selenyum vücuttan feçes, idrar ve solunumla atılır. Atılma oranları hayvan türlerine, veriliş yoluna, rasyondaki Se miktarına, kimyasal formuna, ayrıca arsenik bakır gibi Se' nin vücuttan atılımını arttıran elementlerin rasyonda bulunan düzeylerine bağlı olarak değişmektedir. Ancak tokoferollerin Se absorpsiyonu ve depolanması üzerinde bir etkisi olmadığı bildirilmektedir (91). Se atılımı genelde monogastriklerde idrarla, ruminantlarda büyük oranda feçesle olmaktadır (28,53). Bunun yanısıra toksik düzeyde alınımalarında solunum yolu ile de fazlaca atılma olmaktadır (2). Değişik düzeylerde radyoaktif Se ( $^{75}\text{Se}$ ) içeren rasyonla beslenen kuzularda Se verilmesinden sonra 48-336 saatler arasında tüm organizmanın Se kaybı ile alınan rasyonun Se konsantrasyonu arasında ters ve önemli bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca Se, 96-144 günler arasında plazma, karaciğer ve kalp dokusundan hızla, iskelet kasları ve kemiklerden ise daha yavaş bir hızla azalmaktadır (91).

İnsanlarda oral olarak alınan Se' nin intestinal absorpsiyonu %44-70 arasında değişmekte ve ilk haftada alınan miktarın %14-20' si idrarla, çok az miktarı da deri ve solunum yolu ile atılmakta, buna karşılık %33-55 arasında feçesle atılmakta. Arsenik, talyum, bakır ve kadmiyum enjeksiyonları da solunum yolu ile Se atılmasını arttırmakta, ancak kurşun ve çinko enjeksiyonunun bu yolla atılma üzerine herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (91).

### **Fonksiyonları:**

Selenyumun en iyi bilinen fonksiyonu, yapısına girdiği glutatyon peroksidaz (GSH-px) enzimi tarafından lipid peroksidasyonu sonucu oluşan peroksit ve hidroperoksitlerin katabolize edilerek su ve alkollere çevrilmesinde önemli bir rol oynamasıdır. Böylece fagositik ve diğer hücrelerin membran bütünlüğü korunmuş olur. Bundan dolayı hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesinde etkin bir rol alır (28,32,53,70,71).



Her molekülü 4 atom Se içeren ve bir selenoprotein olan GSH-px, karaciğer ve eritrositlerde en yüksek kalp, böbrek, akciğer, mide, adrenal bezler, pankreas ve adipoz dokularda orta derecede; beyin iskelet kasları, göz lensleri ve testislerde ise daha az olmak üzere tüm dokularda aktivite gösterir. Gastrointestinal kanaldan lipitlerin ve tokoferollerin normal absorpsiyonunun sağlanmasından sorumlu olan pankreatik lipaz üretimi ve normal pankreas morfolojisi için Se gereklidir (28,54). Ayrıca E vitamininin serum gamaglobulinleri ile birlikte bir selenoprotein fraksiyonu ile taşındığı dolayısıyla Se' nin bir fonksiyonunun da E vitamini taşıyıcısı görevi yaparak  $\alpha$ - tokoferollerin bozulmasının önlenmesinde , emiliminde ve dolayısıyla E vitamininin biyolojik aktivitesinin artmasında etkili olabileceği ifade edilmiştir (33,66).

Se' nin bazı enzimlerin yapısında yer aldığı (GSH-px, 5' deidonaz), bazı enzimlerin ise (SGOT gibi) sentez ve aktiviteleri üzerinde önemli rol oynamasına rağmen toksik dozlardaki Se' nin (10 ppm) enzim inhibitörü olarak etkidiği bildirilmiştir (90,96).

Se' nin alyuvarların hemolizini ve hemoglobinin serbest radikaller tarafından tahribini önlediği ayrıca Se' nin sperm proteinlerinde yapısal bir rol oynadığı, endokrin aktiviteye katıldığı (yapısında bulunduğu 5' deidonaz enzimi, tetraiodtroninin triiodotrone çevrilmesinde (90) ), bakteriel RNA' nın yapısına girdiği, plazma proteinlerinde taşıma görevi yaptığı üreme



fonksiyonları üzerinde de olumlu etkileri olduğu ve testis proteinlerinde mitokondrial yapıya katıldığı kaydedilmiştir (5,66).

Esansiyel bir madde olan Se immun sistemde de etkilidir. Örneğin nonspesifik humoral ve hücre sel bağışıklık sisitemlerinde çok önemli bir rol oynar (25,55). Besindeki Se miktarındaki değişiklikler fagositik hücrelerin (nötrofil, makrofaj) fonksiyonlarına etki ettiği (22), yetersizliğinde rat, fare ve sığırlardan elde edilen nötrofillerin, hem Candida albicansı fagosite etme hem de fagosite edilen C. albicansı öldürme yeteneklerinde bozulma olduğu bildirilmiştir (25). Makrofajların lizozom membranlarının GSH-px içerdikleri ve Se yetersizliğinde bunların tahrip olduğu bildirilmiştir (32).

Genel olarak; Se yetersizliğinde immunosupresör sonuçlar görülür. Oysa Se' nin fizyolojik dozlarda ilave edilmesi ile immunolojik cevapta artış veya düzelmenin olduğu ifade edilmektedir. Kısaca Se yetersizliğinde; 1- Mikrobial ve viral enfeksiyonlara karşı direncin azalması, 2- Fagositik hücrelerin fonksiyonlarının azalması, 3- Antikor üretiminin azalması, 4- Mitojenlere karşı cevapta B ve T lenfositlerin proliferasyonunda azalma , 5- Lenfosit ve NK hücreler tarafından hücrelerin yıkımını inhibe ettiği görülmüştür. Se' nin yeterli olması durumunda ise; 1- Nötrofil fonksiyonlarının arttığı (Örneğin rat ve keçide nötrofil kemotaksisi ve migrasyonda artış, ayrıca keçilerde fagositik aktivitede artma ve birçok hayvan türlerinde hücre içi öldürme mekanizmalarının artışın oluşu) 2-Antikor üretiminde artma (özellikle Ig G) 3- Mitojenlere karşı cevapta B ve T lenfositlerin proliferasyonunun uyarılması 4- Lenfokinlerin üretiminin uyarılması 5- NK hücreler tarafından hücrelerin yıkımının stimule edilmesi gibi etkiler tespit edilmiştir (55,87).

Değişik hayvan türleri üzerinde yapılan bazı deneysel çalışmalarda, selenyumun seviyesi ile enfeksiyon ajanlarına karşı direnç arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bildirmiştir (34). Se' den yetersiz olan hayvanlar üzerinde oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda, bu hayvanların enfeksiyonlara karşı çok

hassas oldukları, sağlıklı inek ve koyunlara Se verilmesi halinde infeksiyon ajanlarına karşı dirençli oldukları, örneğin *Diplococcus pneumonie*, *Candida albicans* ve *S. aureus*la enfekte edilen Se' den yetersiz fare ve ratların Se' den yeterli hayvanlara kıyasla daha hassas olduğu ve bunların hayatta kalma oranlarını daha az olduğu kaydedilmiştir (34,87).

Selenyumun subklinik ve klinik mastitisin önlenmesinde de olumlu rolünün olduğu, bunun nedeninin ise; PMN' lerin sayısında, immun fonksiyonlarda ve antikor üretimindeki Se' nin uyarıcı etkisinin olabileceği şeklinde izah edilmiştir (10).

Se ile kanser arasındaki ilişki araştırılarak insanlarda fizyolojik düzeydeki Se' nin kanserojen olmadığı hatta antikanserojen etki gösterdiği (66), kanserli hastaların ölüm oranı ile Se konsantrasyonları arasında negatif bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir. Diyete düşük düzeyde Se ilavesinin kanser insidansı ve mortalite oranını düşürdüğü bildirilmesine rağmen bu konu halen tartışılmaktadır (71,91).

Evcil hayvan ve insanlarda Se yetersizliğinin belirtileri iyi incelenmiştir. Bunlar; birçok dokuda dejeneratif bozukluklar üreme ve büyümede defektler, kardiovasküler hastalıklara karşı hassasiyetin artması, immun defektler ve bazı kanserleri içerir (53).

Genellikle hayvanların yetersizlik sendromundan korunabilmesi için 0.05-0.10  $\mu\text{g/g}$  ve daha yüksek değerlerde Se bulunmasının yeterli olduğu 0.05  $\mu\text{g/g}$ ' dan az olduğu zaman yetersizlik belirtileri görülmeye başladığı kaydedilmiştir (53,66). Oysa dokularda optimal GSH-px aktivitesi meydana gelebilmesi için diyetel Se konsantrasyonunun 0.10- 0.20  $\mu\text{g/g}$  değerleri arasında olması gerektiği, buna karşın diyeteki Se seviyesi 3  $\mu\text{g/g}$ ' ı aştığı zaman zararlı etkiler meydana getirdiği rapor edilmiştir (32,53). Ratlarda Se'nin toksik dozu; intraperitoneal 3.35-3.5 mg /kg Se (sodyum selenit olarak), intravenöz 3 mg/kg Se minimal letal doz olarak bildirilmiştir (71).

### **E Vitamini ile Selenyum Arasındaki İlişki:**

Hoekstra (70); hücre membranlarında lipid peroksidasyonunun önlenmesinde E vitamini ve GSH-Px enzimi arasındaki ilişkiyi gösteren bir teori ortaya artmıştır. GSH-Px; her molekülü 4 atom selenyum içeren bir seleno-proteindir. Ayrıca GSH-Px' in haraplayıcı yapıda olan yağ asitleri peroksitlerinin alkollere dönüşümünü katalize ettiği, bu etkisiyle hücre membranı ve subselular membranların oksidatif etkiden korunmasını sağladığı bildirilmektedir (52,70).

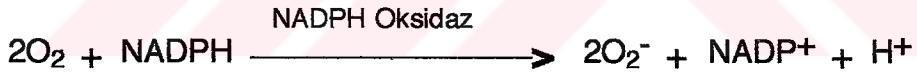
Hoeksra' ya (70) göre; hem E vitamini hem de Se, böylesi bir oksidatif haraplanmanın önlenmesinde temel ve birbirini tamamlayıcı rollere sahiptirler. Tokoferol molekülleri (subselular membranların içine testere dişi gibi yerleşerek) doymamış yağ asidi moleküllerine bağlanır ve hücre solunumu süresince metabolize olmalarına kadar onlarla zayıf kimyasal bileşikler oluşturur (70,89). Şöyleki; doymamış yağ asitleri çift bağa sahip olduklarından oksijen ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer ve zarların yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve hidroperoksitleri oluşturur. İşte E vitamini hidrojen protonları ile peroksit ve hidroperoksitleri doyurarak peroksit radikallerin etkinliklerini azaltıp otooksidasyonun başlatıcısı olan bu reaksiyonu daha işin başında iken duraklatır. Se ise oluşan peroksitleri GSH-Px aracılığı ile parçalar. Şayet tokoferolün mevcudiyeti doymamış yağ asidi moleküllerinin hepsine bağlanacak kadar yeterli değilse, yada GSH-Px miktarı tüm peroksitleri engelleyemeyecek düzeyde ise o zaman doku harabiyeti meydana gelir (52,89). Bu nedenle gerek E vitamini gerekse Se eksikliğinin klinik belirtileri birbirlerine çok benzerdir. Ancak şunu belirtmek gerektir ki, E vitamini ve Se birbirinin yerini kesinlikle alamazlar. GSH-px oluşturamayacak kadar Se yetersizliği söz konusu olduğunda, hücrelerde fazla miktarda peroksit birikecek ve bunlar mevcut  $\alpha$ - tokoferolün korumasına rağmen doymamış

lipitlere hücum edeceklerdir. Buna karşın  $\alpha$ - tokoferol tarafından korunma yetersiz ise aktif oksijen derivatları doymamış lipitlere hücum edebilirler (70).

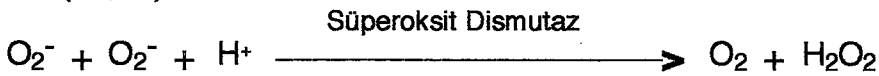
### **E vitamini , Selenyum ve Fagositoz:**

Hem makrofajlar hem de nötrofil granülositler, bakteri ve yabancı maddelere karşı yüksek bir fagositik aktiviteye sahip olmalarıyla bilinirler (4,85,97). Fagositoz, Respiratory burst ismi verilen reaksiyonla ilişkilidir. Bu reaksiyon daha önce de belirtildiği gibi, oksijen ve glikoz tüketiminin artması ile süperoksit radikalleri ve diğer oksijen metabolitlerinin şekillenmesi ile karakterizedir (12,14,29,97).

Fagositik uyarımdan önce fagositik hücreler tarafından oksijenin az bir kısmı tüketilir. Başta enfeksiyöz hastalıklar olmak üzere meydana gelen fagositik uyarımdan sonra oksijen tüketiminde yaklaşık 100 misli kadar bir artış olur (respiratory burst). Bu yolla moleküler oksijen ( $O_2$ ), süperoksijene indirgenen bir reaksiyonla en son şekline erişir (23,67).

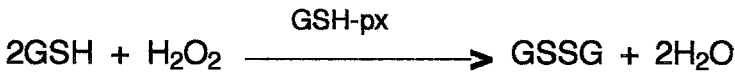
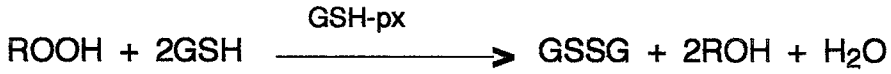
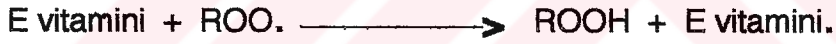


İki  $O_2^-$  molekülü etkileştiği zaman bunlardan biri oksitlenir diğeri ise indirgenir (12,47).



Oluşan süperoksit ( $2O_2^-$ ) daha sonra bir çok reaksiyona girerek toksik oksijen derivatları olan  $H_2O_2$ , hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ), organik oksijen radikalleri ve hipoklorit ( $HOCl$ ) iyonlarını oluşturur. Bu radikaller fagosite edilmiş mikroorganizmaları öldürmek veya hücre içi mikrobisidal reaksiyonlar için kullanılır (14,23). Esasında bu oksidan moleküller belirli düzeyde kaldıkları sürece organizmanın yabancı maddeler ve enfeksiyöz ajanlara karşı önemli savunma moleküllerindendirler. Fagositozda nötrofil ve makrofajlar tarafından

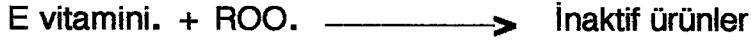
salınarak bakterisidal etki gösterirler. Ancak bunlar belirli düzeyin üzerinde oluşur yada E vitamini ve Selenyum gibi antioksidanlar yetersiz olursa, söz konusu oksidan moleküller (radikaller) hücrenin yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Özellikle fagositik hücrelerin tahribine sebep olurlar. Doku hasarının olduğu bölgede doğal enzimlerden kaçabilmiş olan oksidan moleküller hücre veya kapillar membranlardaki lipitleri etkileyerek "lipit peroksidasyonunu" başlatırlar. Az da olsa başlamış olan bu reaksiyonun artmaması için engelleyici mekanizmalar devreye girer. İşte E vitamini ve Se böylesi bir oksidatif haraplanmanın önlenmesinde çok önemli rollere sahiptirler. Şöyleki; E vitamini bu radikalleri bloke ederek diğer zararlı reaksiyonları durdurur. Se ise yapısında bulunduğu GSH-px ile oluşan  $H_2O_2$ ' i suya, ayrıca lipid peroksitleri de alkol ve suya dönüştürerek zararsız hale getirir. Böylece fagositik hücreler bu serbest radikallerin tahrip edici etkisinden kurtulmuş olur.



Scavenger etkileri (Oksidanlarla etkileşip onları tutma ve çok daha zayıf etkili yeni bir moleküle çevirerek etkisiz hale getirmeye "Scavenging Etki" adı verilir) olan moleküller, doğal enzimlerden kaçan oksidan molekülleri ile mücadele ederler.

İlk etapta az da olsa başlayan lipit peroksidasyonu ile açığa çıkan peroksil radikali ( $\text{ROO}\cdot$ ), lipofilik özelliğinden dolayı membranda erimiş halde bulunan E vitamini ile reaksiyona girer ve daha zayıf oksidan olan lipit

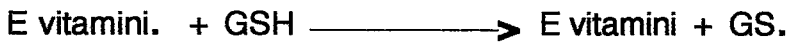
hidroperokside (ROOH); E vitamini ise yine zayıf radikal etkinlikli "radikal E vitamini." ne dönüşür. Ayrıca radikal E vitamini. peroksil radikali ile etkileşerek inaktif ürünler oluşur (26,52,12,67,89, 49,50).



Ortamda yeterli düzeyde bulunan GSH, ROOH ile reaksiyona girer ve onu etkisizleştirirken, yine ortamda bulunan vitamin C, zayıf oksidan molekül halinde olan radikal E vitamini.' ni tekrar aktif E vitamini' ne dönüştürür. Kendisi ise zayıf oksidan olan radikal vitamin C.' ye dönüşür. Radikal vitamin C. ise  $2\text{H}^+$  ile reaksiyon girerek tekrar aktifleşir.

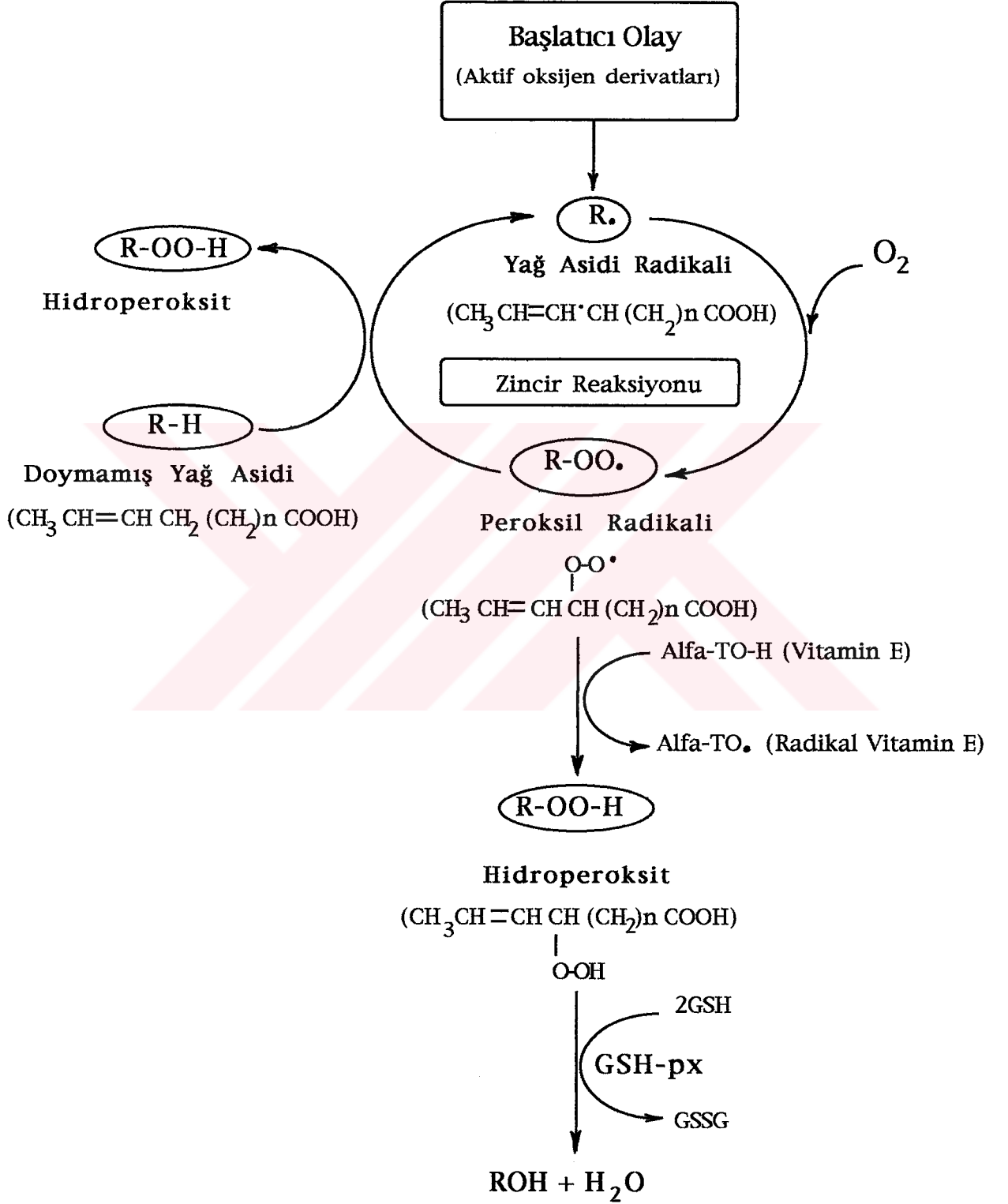


Radikal E vitamini., ortamda C vitamini bulunmazsa GSH ile reaksiyona girerek aktif E vitaminine dönüşür. Ancak bu reaksiyonda oldukça önemli olan GSH harcanması yerinde olmayacaktır. Çünkü GSH; oluşan ROOH,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve OH. radikallerinin etkisizleştirilmesi için öncelikli önemi olan moleküldür. (48,67,92).



Yukarıdaki reaksiyonlardan da anlaşıldığı gibi; E vitamini ve ayrıca Se yetersizliğinde; fagositoz esnasında üretilen serbest radikallerin lipid peroksidasyonu oluşturması sonucu fagositik hücreler tahrip edilir ve dolayısıyla hücreler fonksiyonlarını yitirirler. Bundan dolayıdır ki; E vitamini ve Se fagositozis de büyük önem arz etmektedirler.

**Şekil 4** : Evitamini ve Selenyumun antioksidan etkinliği (Burtan (26)' dan değiştirilerek çizildi).





## MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, ağırlıkları 140-160 gr arasında değişen 5 haftalık erkek toplam 60 adet Wistar albino sıçan kullanıldı. Yem olarak, Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen rat yemi yedirildi. Yem ve su ad libitum olarak verildi.

Çalışma, in vivo olarak yapıldı. Bu amaçla sıçanlar üç gruba ayrıldı;

I. Grup (n=20) : Her sıçana, 5 hafta süreyle hergün 10 mg dl-alfa-tokoferil asetat (Ephynal; Roche) intraperitoneal (İP) olarak uygulandı.

II. Grup (n=20) : Her sıçana, 5 hafta süreyle hergün 0.2 mg sodyum selenit (Sigma S 52 61, steril distile suda hazırlanmış) İP olarak uygulandı.

III. Grup (n=20) : Sıçanlara aynı süreyle plasebo olarak serum fizyolojik İP olarak uygulama yapıldı.

Uygulama sonunda, yaklaşık 12 saatlik açlığı müteakib her bir sıçana 10 cc fosfat tampon çözeltisi (PBS, pH=7.4) periton boşluğuna verildi ve 10 dk sonra sıçanlar eterle uyutuldu. Daha sonra batin açıldı. Ucunda katater bulunan enjektör yardımıyla periton boşluğuna verilen sıvı geri alındı. Bu şekilde periton makrofajları elde edildi. Daha sonra trachea kanüle edilerek, toplam 10 ml PBS ile birkaç defa akciğer lavajı yapıldı. Bu şekilde alveol makrofajları elde edildi (36,81).

Elde edilen alveol ve periton makrofajlarının canlılık oranı (viabilite) %1' lik trypan blue testi (93) ile yapıldı %96 - % 97 olarak tespit edildi. Daha sonra Alveol ve periton makrofajları  $2 \times 10^6$ /ml makrofaj olacak şekilde hücre süspansiyonu ayarlandı. Alveol ve periton makrofaj süspansiyonlarından 1' er ml tüplere alındı. Bunun üzerine de 0.1 ml %1' lik aktif kömür çözeltisi ilave edildi. Bu şekilde hazırlanan tüpler 37 °C' lik su banyosunda bir saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon esnasında her 15 dk' da bir tüpler hafifçe çalkalanmak suretiyle makrofajların karbon partikülleri ile etkileşebilmesi sağlandı. İnkübasyondan sonra tüplerdeki sıvıdan (makrofaj ve kömür partikülü



içeren) alınan nümune Thoma lamına yerleştirildi. Her sıçana ait 100 alveol ve periton makrofajlarının fagosit ettiği karbon partikülleri ışık mikroskopunda 100' lük objektifle (immersion) sayıldı ve aritmetik ortalamaları hesaplanarak her bir sıçana ait fagositik aktivite değerleri saptandı (36).

Her gruba ait fagositik aktivite değerlerinin istatistiksel analizi ("Student's t" testi) Stat view 512+™ paket programı ile Macintosh bilgisayarda yapıldı.



## BULGULAR

Her üç gruba ait ferdi fagositik aktivite değerleri Tablo 1' de verilmiştir. E vitaminin ve selenyumun makrofaj fagositik aktivitesine etkileri şöyledir;

a) Alveol makrofajlarının fagositik aktivitelerine etkisi: Kontrol grubu Alveol makrofajlarının fagositik aktivite değeri  $4.55 \pm 0.30$  / saat , uygulama gruplarının ise; E vitamini uygulanan grupta  $5.33 \pm 0.58$  / saat , Selenyum uygulanan grupta  $5.46 \pm 0,39$  olarak belirlendi (Tablo 2 , Şekil 4,6 ). İstatistiksel açıdan kontrol grubu ile uygulama grupları arasındaki fark önemli bulundu ( $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ).

b) Periton makrofajlarının fagositik aktivitelerine etkisi: Kontrol grubu periton makrofajlarının fagositik aktivite değeri  $4.51 \pm 0.33$  / saat , uygulama gruplarının ise; E vitamini uygulanan grupta  $5.48 \pm 0.60$  / saat Selenyum uygulanan grupta  $5.84 \pm 0,59$  olarak belirlendi (Tablo 2 , Şekil 5,7 ). İstatistiksel açıdan kontrol grubu ile deney grupları arasındaki fark önemli bulundu ( $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ).

c) Kontrol ve uygulama gruplarının kendi periton ve alveol makrofajlarının fagositik aktiviteleri arasında önemli bir farklılık bulunmadı. Uygulamaların her iki makrofaj tipinin fagositik aktivitelerinin aynı ölçüde etkilediği gözlemlendi (Tablo 3 , Şekil 10 ).

d) Periton ve alveol makrofajlarının fagositik aktivitelerinin E vitamini ve Selenyum grubu arasındaki karşılaştırmada, sadece Selenyum grubunun periton makrofajlarının fagositik aktivitesinden anlamlı bir farklılık ( $p<0.01$ ) gösterdiği belirlendi (Tablo 4, Şekil 8,9 ).

**Tablo 1:** Kontrol ve uygulama grubuna ait fagositik aktivite değerleri.

RAT NO	KONTROL GRUBU		VİTAMİN E GRUBU		SELENYUM GRUBU	
	Peritoneal Makrofaj	Alveolar Makrofaj	Peritoneal Makrofaj	Alveolar Makrofaj	Peritoneal Makrofaj	Alveolar Makrofaj
1	4.07	4.08	4.77	4.72	5.18	6.25
2	4.60	4.82	5.34	4.27	5.82	4.70
3	4.38	4.36	5.03	4.97	5.42	5.80
4	4.06	4.24	5.34	4.87	6.73	5.19
5	4.00	4.38	4.40	5.42	4.68	5.11
6	4.92	4.12	6.20	5.56	4.90	5.54
7	5.22	4.73	6.30	5.78	6.16	5.85
8	4.97	4.66	5.61	5.37	6.72	5.10
9	4.92	4.66	6.07	6.20	6.98	6.10
10	4.35	4.24	6.17	6.00	6.15	5.15
11	4.20	4.27	4.85	4.77	5.80	5.86
12	4.74	4.84	5.36	4.32	5.85	5.92
13	4.32	4.46	5.12	5.10	5.32	5.63
14	4.81	4.25	5.38	5.01	5.40	5.51
15	4.85	4.80	4.50	5.42	5.87	5.43
16	4.90	4.85	6.00	5.57	5.90	5.22
17	4.71	4.86	6.31	5.61	6.10	5.10
18	4.71	4.70	5.83	5.42	6.22	5.27
19	4.95	4.90	6.17	6.25	5.93	5.30
20	4.45	4.49	6.06	6.15	5.74	5.35
<b>X</b>	4.51	4.55	5.48	5.33	5.84	0.39
<b>SD±</b>	0.33	0.30	0.60	0.58	0.59	5.46

**Tablo 2:** Gruplar arası fagositik aktivite farkı (t değeri),  
Değerler, Ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir.

<b>Fagositik Aktivite</b>	<b>Kontrol</b> (n= 20)	<b>E vitamini</b> (n= 20)	<b>Selenyum</b> (n= 20)
Periton Makrofajları	4.51 $\pm$ 0.33	5.48 $\pm$ 0.60 *	5.84 $\pm$ 0.59 *
Alveol Makrofajları	4.55 $\pm$ 0.30	5.33 $\pm$ 0.58 *	5.46 $\pm$ 0.39 *

Kontrol ile uygulama grupları arasındaki fark \*  $p < 0.001$

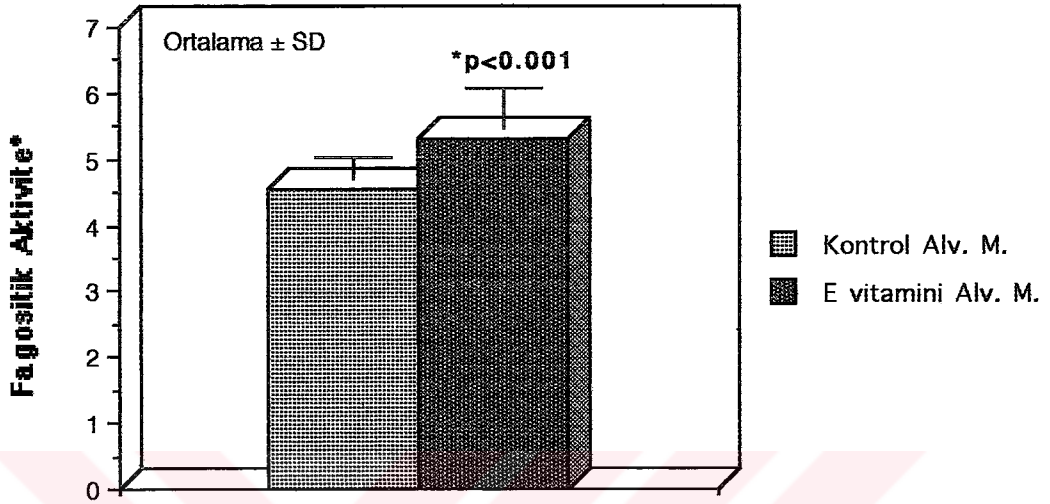
**Tablo 3:** Periton ve alveol makrofajları arasındaki fagositik aktivite farkı

<b>Fagositik Aktivite</b>	<b>Periton M.</b>	<b>Alveol M.</b>	<b>İstatistiksel Önem</b>
<b>Kontrol</b> (n= 20)	4.51 $\pm$ 0.33	4.55 $\pm$ 0.30	Önemsiz
<b>E vitamini</b> (n= 20)	5.48 $\pm$ 0.60	5.33 $\pm$ 0.58	Önemsiz
<b>Selenyum</b> (n= 20)	5.84 $\pm$ 0.59	5.46 $\pm$ 0.39	Önemsiz

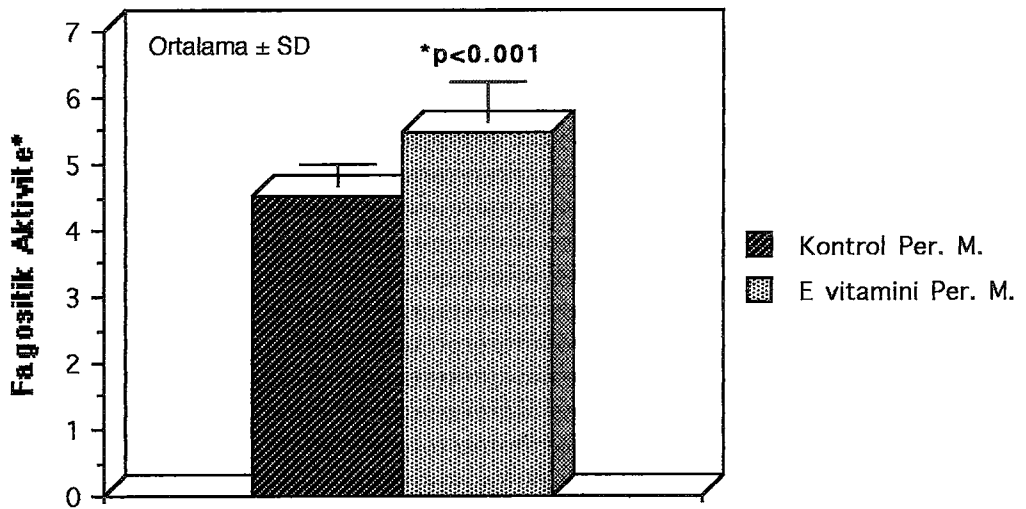
**Tablo 4:** E vitamini ile selenyum arasındaki fagositik aktivite farkı.

<b>Fagositik Aktivite</b>	<b>E vitamini</b> (n= 20)	<b>Selenyum</b> (n= 20)	<b>İstatistiksel Önem</b>
Periton Makrofajları	5.48 $\pm$ 0.60	5.84 $\pm$ 0.59 *	* $p < 0.01$
Alveol Makrofajları	5.33 $\pm$ 0.58	5.46 $\pm$ 0.39	Önemsiz

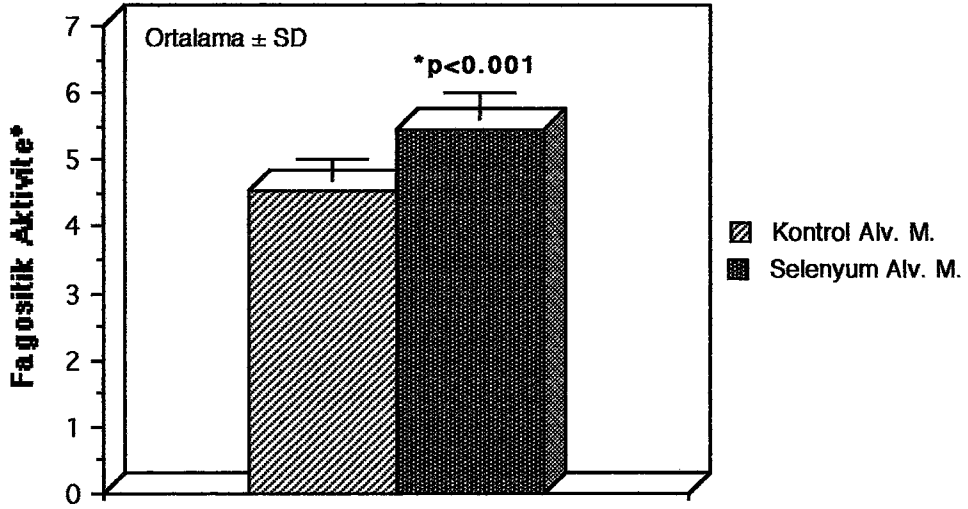
Şekil 4: E vitamini Grubu Alveolar Makrofajların Fagositik Aktiviteleri.



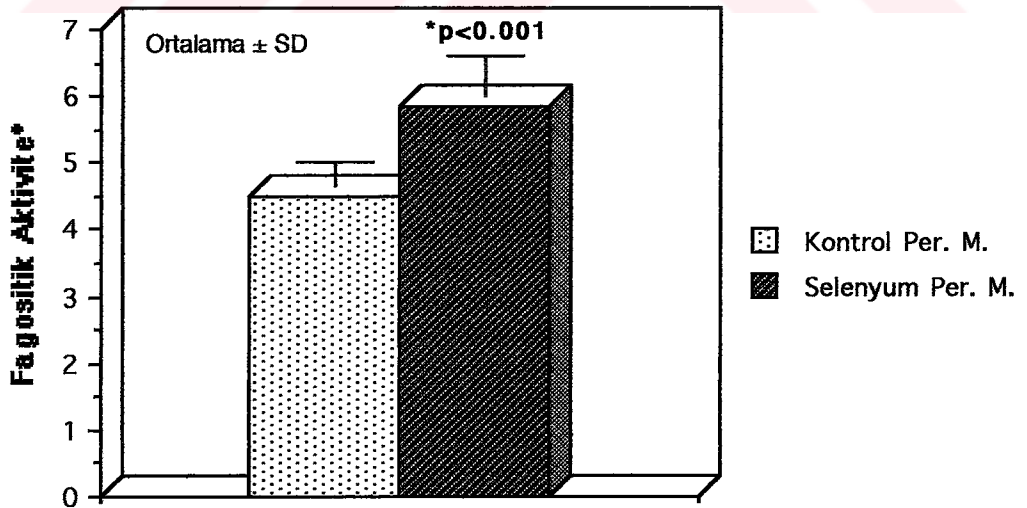
Şekil 5: E vitamini Grubu Peritoneal Makrofajların Fagositik Aktiviteleri.



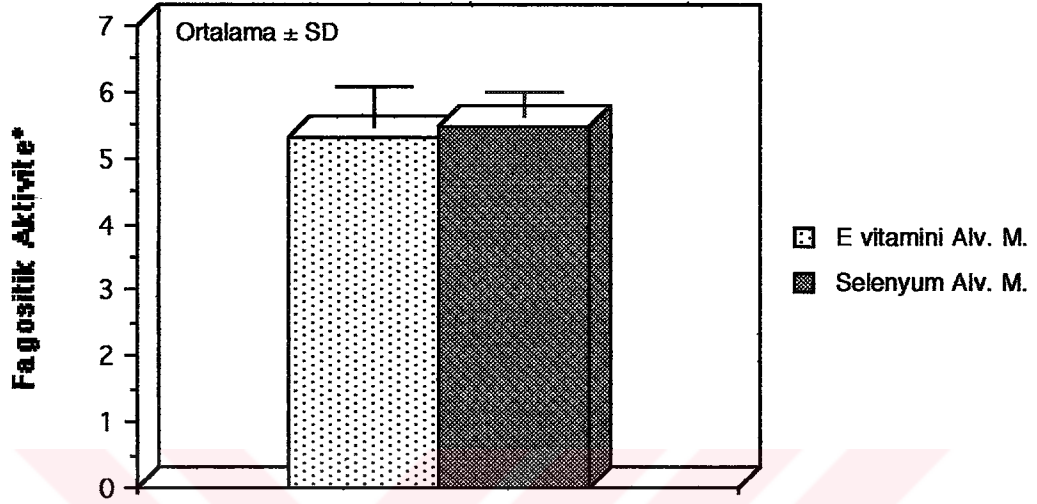
**Şekil 6:** Selenyum Grubu Alveolar Makrofajların Fagositik Aktiviteleri.



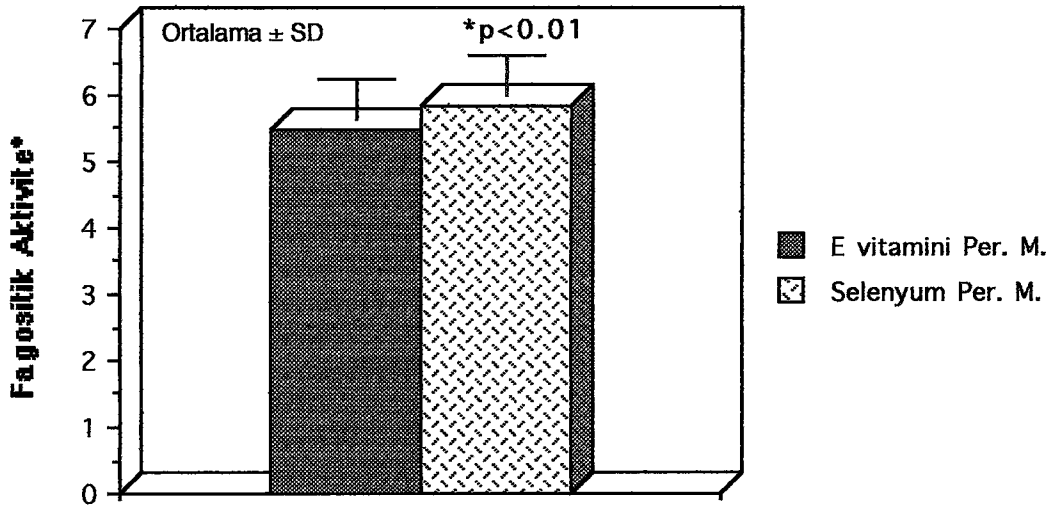
**Şekil 7:** Selenyum Grubu periton Makrofajların Fagositik Aktiviteleri.



**Şekil 8:** E vitamini ile Selenyum Grupları Alveolar Makrofajların Fagositik Aktiviteleri.

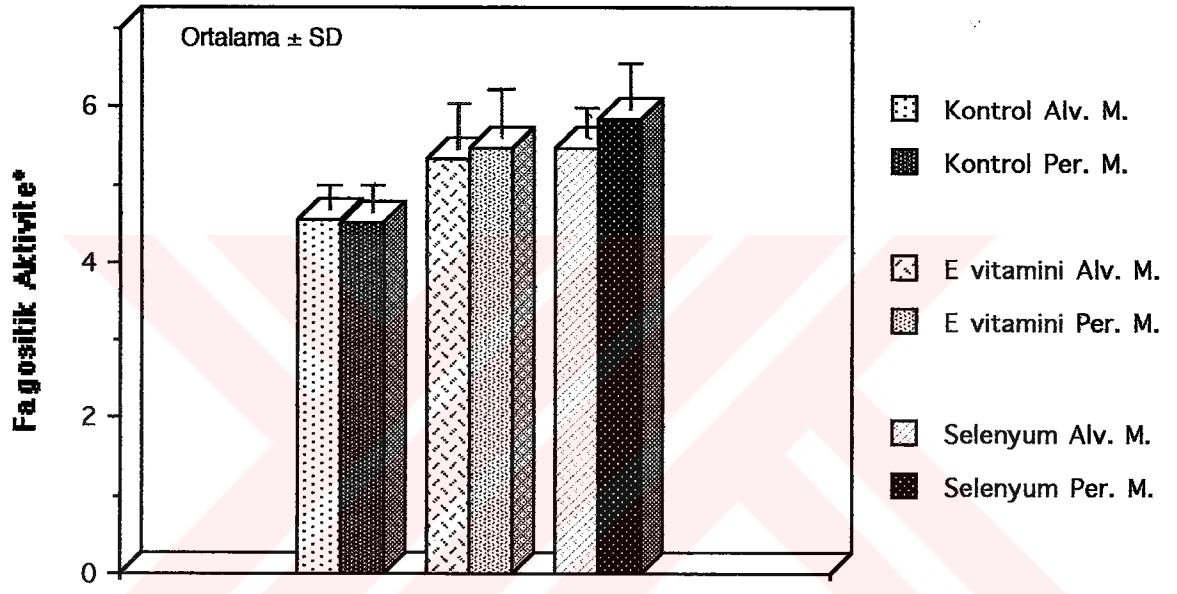


**Şekil 9:** E vitamini ile Selenyum Grupları Periton Makrofajların Fagositik Aktiviteleri.





**Şekil 10:** Bütün Grupların Alveolar ve Peritoneal Makrofajların Fagositik Aktiviteleri

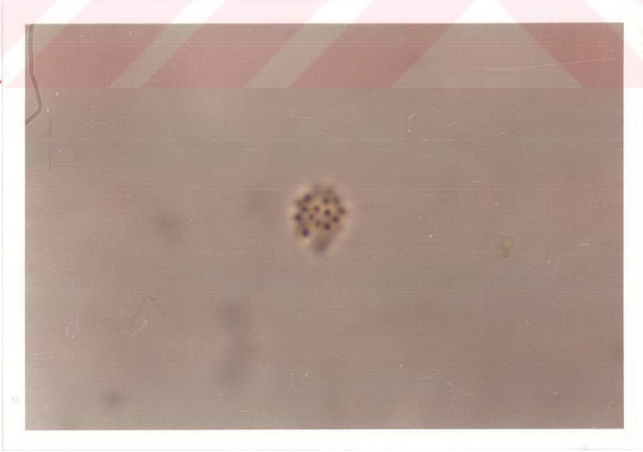


**Fagositik Aktivite\*** : Makrofajlar Tarafından Yutulan Kömür Partikülü/Saat

**Şekil 11:** Alveolar Makrofajın Fagosit Ettiği Kömür Partikülü (Işık mikroskobu. X1800).



**Şekil 9:** Periton Makrofajın Fagosit Ettiği Kömür Partikülü (Işık mikroskobu. X1800).



## TARTIŞMA VE SONUÇ

E vitamini' nin bilinen en önemli fonksiyonlarından biri hücre membranlarında önemli bir antioksidant veya serbest radikal giderici olmasıdır. Bu sebeple biyolojik sistemlerde özellikle hücre membranında, fosfolipitler içinde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu bloke etmekle serbest radikallerin zararlı etkisini önlemede çok önemli bir rol oynar. Bu özelliğinden dolayıdır ki; E vitamini özellikle fagositik hücre ve membranlarının korunması için oldukça önem arz etmektedir (20,26,61,62).

E vitamini, fagositik hücrelerin fonksiyonlarını arttırmak ile infeksiyon ajanlarına karşı vücudun savunma sistemini artırır. Fagositoz sırasında nötrofil ve makrofajlardaki respiratory burst yoluyla üretilen ve serbest radikallerin oksidatif etkisinden fagositik hücreleri ve bunların bulunduğu dokuları korur (12,13,15).

RB olayı süperoksit ve hidrojen peroksit üretiminin artması ile sonuçlanan oksijen metabolizmasındaki bariz değişiklikler ile karakterize edilir. Üretilen bu oksijen metabolitleri fagosite edilen bakterilerin öldürülmeleri veya antimikrobiyal savunma mekanizmasında gerekli olmasına rağmen, bu serbest radikaller lipit peroksidasyonu ile fagositik hücre membranlarını ve dolayısıyla hücreyi tahrip edebilirler. Fagositozis esnasında fagositik hücre membranlarında  $\alpha$ -tokoferol tüketimi olduğu ve buna paralel olarak nötrofillerdeki E vitamini konsantrasyonunun trombositlerden 10, alyuvarlardan 35 misli daha fazla olduğu belirlenmiş ve fagositoz yapan hücrelerde E vitamininin önemi ve rolü vurgulanmıştır (12,13,19,20,23,27,35,45,69,88). Doymamış yağ asitleri çift bağa sahip olduklarından oksijen ile hızlı bir reaksiyona girerler. Mitokondri, mikrozom ve diğer intraselular membranların yapısını ve metabolizmasını bozan serbest radikallerden olan peroksit ve hidroperoksitleri oluştururlar. E vitamini, hidrojen protonları ile peroksit ve hidroperoksitleri doyurarak peroksit radikallerin aktivitelerini azaltır. Biyolojik

otooksidasyon için başlatıcı olan bu reaksiyon anılan indirgeme nedeniyle hemen inhibe edilir. Bu şekilde peroksit oluşumu engellenerek fagositik hücreleri, bu serbest radikallerin tahrip edici etkisinden koruyarak fonksiyonlarını artırır (42,44,96).

Hogan ve ark.(50); enjektabl (dl  $\alpha$ -tokoferol) uygulanan ineklerden alınan nötrofillerin bakterisidal aktivitesi (hücre içi bakteri ölümü) plasebo uygulananlara kıyasla önemli ölçüde arttığı, buna karşın ne fagositik indekste ne de fagositoz yapma oranında bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Başka bir bildirimde (49) de; rasyona E vitamini ilave edilen sığırlardan elde edilen nötrofillerin hücre içi *Staphylococcus aureus* ve *E. coli* ölümünde artışın görüldüğü fakat fagositik aktivitede değişikliğin olmadığı bildirilmiştir. Bu bildirimler bulgularımızla tezat teşkil etmektedir (Tablo 2). Buna karşılık aşağıda belirtilen bildirimler bulgularımızı doğrular niteliktedir.

Podstavka ve ark. (69); E vitamini' nin bu koruyucu etkisini, toksik etkili bir pestisit olan "Lindan" ile (Lindan, serbest radikallerin oluşmasına ve stoplazmik membranlarda lipit peroksidasyonuna sebep olur.) in vitro olarak olarak yaptıkları çalışmada; nötrofil süspansiyonunun bulunduğu ortama 150  $\mu$ M ve 200  $\mu$ M lindan ilave ederek oluşturulan intoksikasyondan sonra nötrofillerin fagositik index' inde ve fagositoz yapma oranında kontrollere oranla önemli bir azalmanın olduğu, aynı ortama 15  $\mu$ g/ml E vitamini ilavesinden sonra , fagositik index ve fagositoz yapma oranında önemli bir artışın olduğunu bildirmişlerdir.

Baehner ve ark (14); günde 1600 ünite E vitamini üç hafta süreyle verilen insanlardan elde edilen PMN' lerin, partikülleri yutma ve fagositoz yapma yeteneğinde kontrole oranla önemli bir artışın olduğunu, buna karşın bakterisidal aktivitelerinde hafif bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, kontrole kıyasla E vitamini verilen grupta süperoksit ( $O_2^-$ ) oluşumunun belirgin bir şekilde artmasına karşılık,  $H_2O_2$ ' de belirgin bir azalma görülmüştür. Hücre

içi  $H_2O_2$ ' ye bağlı olan heksoz monofosfat şantın aktivitesi fagositoz esnasında azalmış, bundan dolayı da bakterisidal aktivitede azalmanın olduğunu bildirmişlerdir.

Harris ve ark. (44); 2 ay süreyle E vitamini' den yoksun yemle beslenen ratlardan elde edilen PMN ve peritonal makrofajların kemotaksisi, kontrole göre sırasıyla % 68, % 44 oranında önemli bir azalmanın olduğunu, kompleman  $C_3$  ile kodlanan partiküllerin yutulmasında kontrole kıyasla sırasıyla % 44, % 43 oranında önemli bir azalmanın olduğunu ve E vitamini bakımından zengin olan insan PMN' lerinin fagositozis ve kemotaksisini arttırdığını kaydetmişlerdir.

Başka bir çalışmada (45) da; 8 hafta boyunca  $\alpha$ -tokoferolca yetersiz diyetle besledikleri ratların periton boşluğundan elde edilen PMN' lerin kontrole oranla hareket kabiliyetlerinin daha az olduğu, partikülleri fagosit etme kabiliyetinde ise çok önemli bir azalmanın ( $P < 0.005$ ) olduğu bildirilmiş, ayrıca ekstraselular ortamda  $H_2O_2$  salınımının artmış, lipid peroksidasyonunun da 1.5 kat daha arttığı bildirilmiştir.

Sakomato ve ark (77). 6 gün süreyle 5 mg İ.P. E vitamini enjeksiyonu yapılan ratların periton boşluğunda çoğunluğunu makrofajların oluşturduğu leukosit sayısında önemli bir artış olduğu ve E vitamini' nin makrofajlar üzerinde düzenleyici etkisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Moriguchi ve ark. (62); değişik oranlarda (50, 250, 500, 2500 mg/kg yem) yeme E vitamini katılarak yedirilen ratların alveolar makrofajların fagositik aktivitesinin, diyetteki E vitamini miktarına bağlı olarak istatistiksel anlamda arttığı, 2500mg/kg yem ilave edilenlerde fagositik aktivitenin kontrole oranla yaklaşık 4 kat daha fazla olduğunu kaydetmişlerdir.

Bahsedilen çalışmalardaki (14,44,45,62,69,77,92) bulgular, bizim çalışmadaki fagositik aktivite bulguları ile aynı paraleldedir. Şöyleki; 10 mg/gün İ.P. E vitamini uyguladığımız ratlardan elde edilen periton ve alveol makrofajlarının fagositik aktivitesi, plasebo uygulanan ratlara kıyasla

istatistiksel olarak her ikisinde de çok anlamlı ( $P < 0.001$ ) bulundu (Ttablo 2, Şekil 4,5 ). Ancak periton ve alveol makrofajları arasındaki fagosit aktivite bakımından önemli bir fark gözlemlenmedi (Tablo 3 , Şekil 10).

Ayrıca tavuklara büyük dozlarda E vitamini verilmesi, fagositozis ve antikor üretiminde artışa neden olduğu, bundan dolayı da tavukların E. coli' ye karşı korundukları, ayrıca rat ve diğer hayvanlarda E vitamini ilaveli diyetle beslenenlerin yetersiz beslenenlere kıyasla önemli derecede infeksiyonlara karşı dayanıklı oldukları, humoral immün cevabı arttırdığı ve yardımcı "T" hücrelerinin aktivitelerini arttırmakla immün sistemde çok önemli bir rol aldığı rapor edilmiştir (18,20,38,44,49,57,83,84).

Selenyum' un fonksiyonel rolü, yapısına girdiği GSH-px vasıtasıyladır. GSH-px, fagositoz esnasında Respiratory burst' u müteakiben üretilen  $H_2O_2$ ' yi suya çevirerek tahrip edici etkisini önler. Ayrıca fagositozis esnasında oluşan ve belirli bir miktarı bakterisitik aktivite için gerekli olan aktif oksijen radikallerinin fazla üretilmesi sonucu fagositik hücre membranlarında lipit peroksidasyonuna sebep olurlar. İşte GSH-px lipit peroksidasyonu sonucu oluşan peroksit ve hidroperoksitleri katabolize ederek inaktif ürünler olan alkol ve suya dönüştürürler. Bundan dolayıdır ki, fagositozis esnasında fagositik hücre ve organellerinin bütünlüğünün bozulmasının önlenmesinde selenyum çok önemli etkin bir rol alır (25,28,32,42,53,70,78 ).

Besinlerdeki Se seviyesindeki değişiklikler nötrofil ve makrofajların fonksiyonlarına etki ettiği belirtilmiş ayrıca, makrofaj lizozom membranları içinde GSH-px'in lokalize olduğu ve Se'den yoksun diyetle beslenmede, makrofaj GSH-px' seviyesinin azalmasına neden olduğu kaydedilmiştir (32 ).

Parnham ve ark. (78) Se' den yetersiz beslenen ratlardan elde edilen makrofajların opsonize zımsan ile uyarılması ile (Makrofaj GSH-px aktivitesinin azalmasından dolayı )  $H_2O_2$  salınmasında artışın olduğu ve bunun

sonucu olarak Se' den yetersiz fagositik hücrelerin haraplanmasında artış meydana geldiğini kanıtlamışlardır.

Hayvanların hücrel ve humoral immun sisteminde önemli rol oynayan Se' nin in vitro fonksiyon testlerinde alınan sonuçlara göre; Se yetersizliğinin rat, fare ve sığır nötrofillerinin fagositik ve bakterisidal (*Candida albicans*) yeteneklerinde bozulmaların olduğu bunların nötrofil fonksiyonu, kemotaksis, migrasyon ve ayrıca heksoz monofosfat şant (HMFS) aktivasyonunda bozukluklar olduğu tespit edilmiştir (8,25,78).

Baker ve Choen (15) Se' den yetersiz beslenen ratlardan elde edilen granülositlerin GSH-px aktivitesinde kontrollere kıyasla azalma olduğu, bunun sonucu olarak ta  $H_2O_2$ ' nin metabolize edilmesinde azalmanın olduğu, buna bağlı olarak endojen ve eksojen  $H_2O_2$  artışından dolayı  $O_2^-$  üretim sisteminin tahrip edildiği bildirilmiştir. Ayrıca NADPH üretimi için gerekli olan HMFS aktivitesinin %50 oranında azaldığı ve bunun sonucu olarak da  $O_2^-$  üretiminde % 70 oranında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu da RB olayının tahrip olması, dolayısıyla de fagosit fonksiyonlarının bozulması anlamını vermektedir.

Selenyumun makrofajlar üzerindeki etkileri hakkında bilgi çok azdır. Yapılan bazı çalışmalarda, Se'den yetersiz ratların peritoneal sıvısında makrofaj oranının Se verilenlere kıyasla önemli derecede azaldığı belirtilmiştir (78). Başka bir bildirimde (55) de; Se'den yetersiz ratların alveolar ve peritoneal makrofajlarının GSH-px aktivitelerinin azalmış olduğu ve  $H_2O_2$  salınımında artış olduğu kaydedilmiş, ayrıca nötrofillerin kemotaktik yeteneklerinde ve kemoatraktanlara karşı cevapta azalma, fungisidal kapasitede,  $O_2^-$  üretiminde ve GSH-px seviyesinde azalma olduğu buna karşın Se verilmesi bu gibi defektleri giderdiği bildirilmiştir.

Aziz ve İlesius (9), Se' den yetersiz besledikleri keçilerin PMN' lerin uyarıcı NCT (Nötrofil kemotaktik) ve NCL (Nötrofil chemiluminenscence)



faktörlerinin üretiminin deprese edildiği ve bunun da nötrofil fagositik fonksiyonlarını etkilediği rapor edilmiştir.

Grasso ve ark.(41) 90 gün süreyle Se' den yetersiz ve Se ilaveli ( 2 mg/ sığır başına/ gün) beslenen sığırlardan elde edilen nötrofillerin fagositik aktivitelerinde önemli bir farklılığın olmadığı buna karşın bakterisidal aktivitede Se ilaveli grupta önemli bir artışın olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmaya benzer olarak (78), Se' den yetersiz ve Se ilaveli (0.5 ppm Sodyum selenit ) diyetle beslenen ratların kan nötrofilleri arasında fagositik aktivite yönünden önemli bir farklılığın olmadığı buna karşın bakterisidal aktivitede Se verilen grupta önemli artışın olduğu bildirilmekte ve bu sonuçların bulgularımızla uygunluk arz etmediği buna karşın aynı çalışmada aynı ratların peritoneal sıvısından elde edilen nötrofillerin fagositozis yeteneği ve bakterisidal aktivitede Se ilave edilen grupta yetersiz olan gruba kıyasla önemli bir artışın olduğu bildirilmekte ve bu da bulgularımızı doğrular niteliktedir (Tablo 2, Şekil 6,7).

Gyang ve ark. (42) Se' den yetersiz besledikleri sütçü sığırlara E vitamini ve Se enjeksiyonunun nötrofil fagositik fonksiyonlarını etkilemediği buna karşın enjeksiyon yapılanlarda bakterisidal aktivitede önemli bir artışın olduğu bunun nedeninin ise, Se yetersizliğindeki bakterisidal yekmezliğin, GSH-px aktivitesinin azalması ile NADP<sup>+</sup> üretiminin azalmasından ileri gelbileceği belirtilmiştir. Buna karşın Dieteret ve ark. (92) ise, E vitamini ve selenyum verilen tavuklardan elde edilen peritoneal makrofajların fagositik aktivitesinde kontrole oranla önemli bir artışın olduğunu tespit etmişlerdir (P< 0.005). Bu bilgiler ışığında; bulgularımız Gyang ve ark (42)' nin bildirimine ters, ancak Dieteret ve ark (92).' nin ifadeleriyle benzerlik göstermektedir (Tablo 2)

Boyne ve ark.(25); 8 hafta süreyle Se' den yetersiz ve Se ilaveli (0.1 mg/kg ) diyetle besledikleri ratlarının periton sıvısından elde edilen nötrofillerin in vitro olarak C. albicansı fagosite etme kabiliyetleri arasında bir farkın

olmadığı ve candidisidal aktivitede Se ilaveli grupta önemli derecede artış olduğu, bununla birlikte nötrofillerin *S. aureus* ve *Salmonella typhimurium*' u fagosite etme ve öldürme kabiliyetleri bakımından her iki grupta farklılık olmadığı bildirilmiştir. Buna karşın peritonal makrofajların hem *C. albicansı* fagosite etme hemde öldürme yeteneklerinde Se' den yetersiz grupta önemli derecede bir azalmanın olduğu belirtilmiştir. Tablo 2 ve Şekil 6,7 incelendiğinde; Se uyguladığımız grupta makrofajların fagositik aktivitelerinde buna benzer önemli bir artışın olduğu gözlenmiştir..

Bir başka çalışmada (17) da; deri altı sodyum selenit verilen tavşanların lökosit sayısında, fagositik aktivitesinde ve bakterisidal indexlerinde önemli bir artışın olduğu bildirilmiştir. Tablo 2 incelendiğinde İ.P. sodyum selenit verdiğimiz ratların makrofaj fagositik aktivitelerinde önemli bir artışın ( $p < 0.001$ ) olduğunu gözlenmektedir.

Aziz ve ark. (8) Se' den yetersiz besledikleri keçilerden elde ettikleri nötrofillerin migrasyon, kemotaksis ve fagositik fonksiyonların birer birer deprese olduğu belirtilmiş, buna karşın bu keçilere 1 mg/18.2 Kg vücut ağırlığı deri altı sodyum selenit uygulandığında nötrofillerin fagositik aktivite, migrasyon ve kemotaksisinde önemli bir artışın olduğu bildirilmiş. Ayrıca keçilerden elde edilen nötrofillere in vitro olarak değişik konsantrasyonlarda (0.18-1.75  $\mu\text{g/ml}$ ) sodyum selenit ilave edilerek inkübe edilmiş. Sonuçta fonksiyonları deprese edilmiş olan nötrofillerin Se ilavesinden sonra hem kemotaksi hemde fagositik aktivitede çok önemli bir artışın olduğu kaydedilmiştir.

Fin'li insanlarda yapılan bir çalışmada (6) ise; serum Se düzeyleri düşük olan vakaların çoğu immun parametrelerin normal bulunmasına rağmen, *S. aureusa* karşı nötrofillerin fagositik aktivitesinde Se verilenlerle karşılaştırıldığında aradaki farkın önemli olduğu bildirilmiş ve bahsedilen çalışmaların (6,8) bulgularımızla benzerlik içerisinde olduğu gözlemlenmiştir.

E vitamini ve Se makrofajların yapı bütünlüğünü zararlı radikallerden koruyarak bunların tahrip edilmesini önlediği ve fagositik hücrelerin fonksiyonları üzerinde dolaylı ama etkin bir role sahip olduğu bildirimlerini (6,8,9,15,25,55,63,78) bulgularımız destekler niteliktedir.

Bu bulgular ışığında hem E vitamini hemde selenyumun ratların alveolar ve peritonal makrofajların fagositik aktiviteleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip oldukları ve dolayısıyla immun sistem ve vücut savunmasında önemli roller oynadıkları sonucuna varılmıştır.



## ÖZET

Bu çalışmada, Selenyum ve E vitamininin in vivo alveolar ve peritonal makrofajların fagositik aktivitesi üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla toplam 60 adet, vücut ağırlıkları 140-160 gr arasında değişen 5 haftalık erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Bu sıçanlardan kontrol (n=20) ve uygulama (n=40) grupları oluşturuldu.

Uygulama grubu iki gruba ayrıldı. Birinci uygulama grubuna 10 mg/gün dl- alfa-tokoferil Asetat, ikinci uygulama grubuna ise 0.2 mg Sodyum selenit intraperitonal olarak 5 hafta süreyle uygulandı. Uygulama sonunda her üç gruba ait alveolar ve peritonal makrofajların fagositik aktiviteleri tespit edildi.

Sonuçta; E vitamini ve selenyum uygulanan grupta, kontrole kıyasla hem alveolar hem de peritonal makrofajlarının fagositik aktivitesinin önemli ölçüde arttığı gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). Buna karşılık fagositik aktivite yönünden alveol ve periton makrofajları arasında önemli bir farklılık bulunmadı.

Bu bulgulara göre, E vitaminini ve selenyum enjeksiyonunun alveolar ve peritonal makrofajların fagositik aktivitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu sonucuna varıldı.

## ABSTRACT

In this study, the effects of selenium and vitamin E on the phagocytic activities of alveolar and peritoneal macrophages in vivo were investigated. For this aim, 40 male wistar albino rats whose body weights are between 140-160 gr were used.

These rats were formed as control (n=20) and experiment groups (n=40). Experiment groups divided in to two groups. To the first group dl-alfa-tocopheryl acetat was enjected intraperitoneally 10 mg/day and to the second group sodium selenit was enjected intraperitoneally 10 mg/day for 5 weeks. At the end of the enjections the phagocytic activities of both alveolar and peritonal macrophages in two groups were determined.

The phagocytic activities of alveolar and peritoneal macrophages increased considerably in experiment groups compare to control group ( $p < 0.001$ ). Significant differences were not found between phagocytic activities of both alveolar and peritoneal macrophages.

According to the findings of this study, enjected intraperitoneally selenium and vitamin E have a positive effect on the phagocytic activity of alveolar and peritoneal macrophages.

## KAYNAKLAR

- 1- Allison, J.M.(1984). Dukes' Physiology of Domestic Animals. Edited by Melvin J. Swenson. 10 th Ed. 262-398. Vail-Ballov Press Inc. USA.
- 2- Ammerman, C.B. and Miller, S.M. (1974). Selenium in Ruminant Nutrition: A review. J. Dairy Sci. 58, (10), 1567-1577.
- 3- Aras, K., Erşen, G. ve Karahan, S. (1976). Vitaminler. Sayfa 161-169. "Tıbbi Biyokimya" . Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- 4- Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M. ve Diker, K.S. (1994)."immunoloji" I. Baskı, Metisan Yayınevi, Ankara.
- 5- Arthur, C.R. (1982). Nutritional İnter-Relationships Between Selenium and vitamin E. Rep. Rowet Inst. 38,124-135.
- 6- Arvilommi, H.J., Poilonen, K. Jokinen, I. Muukonen, O., Rasanen, L., Foremen, J. and Huttunen, J.K. (1983). Selenium an Immune Functions in Humans Infect. Immun,41, 185-189.
- 7- Aytuğ, C.N., Alaçam, E., Görgül, S. ve ark. (1991). Metabolizma hastalıkları, sığır hastalıkları. İkinci baskı. Tüm. Vet. Yayını No: 3, İstanbul. 348-350.
- 8- Aziz, E.S. and Frandsen, J.C. (1984). Effect of on Polymorphonuclear Leukocyte Funktion in Goat. Am. J. Vet. Res. 45, (9), 1715-1718.
- 9- Aziz, E.S. and Klesius, P.H. (1986). Depressed Neutrohyl Chemotactic Stimuli in Supernatant of Ionophore-Treated Polymorphonuclear Leukocytes from selenium-Deficient Goats. Am. J. Vet. Res.47,(1),148-151.
- 10- Babior, B.M. (1978). Oxygen-Dependent Microbial Killing by Phagocytes. The New England J. Med. 298-(12), 659-667.
- 11- Babior, B.M. (1984). Oxidants From Phagocytes: Agents of Defense and Destruction. Blood. 64, (5), 959-966.
- 12- Babior, B.M. (1984). The Respiratory Burst. of Phagocytes. J. Clin. Invest. 8, 599-601.

- 13- Baehner, R.L., Boxer, L.A., Alen, J.M. and Davis, J.(1977). Autooxidation as a Basis for Altered Function by Polymorphonuclear Leukocytes. *J. Immunol.* 30,2856
- 14- Baehner, R.L., Boxer, L.A., Ingraham, L.M., Butterick, C. and Haak, R.A. (1982). The Influence of Vitamin E on Human Polymorphonuclear Cell Metabolism and Function. *Annals New York Academy of Sciences.* 393, 237-250.
- 15- Baker, S.S. and Cohen, H.J. (1983). Altered Oxidative Metabolism in Selenium Deficient Rat Granulocytes. *Am. Assoc. Immunologist* 130,(6), 2856-2860.
- 16- Bayram, A., Vural, Ö. ve Bakan, E. (1985). Nötrofil Fagositozu. *Türkiye Klinikleri*, 5, (3), 276-279.
- 17- Behrentein, T.T.(1972). Effect of Selenium and Vitamin E on Antibody Formatio in Rabbits. *Zdra. Wookhr. Bolorus.* 18,34-36.
- 18- Bendich, A., Gabriel, E. and J. Machlin, L. (1986). Dietary Vitamin E Requirement for Optimum Immun Responses in the Rat. *J. Nutr.* 116, 675-681.
- 19- Bendich, A. (1990). Antioksidan Micronutrient and Immun Responses. *Ann. New York Acad. Sci.* 587, 168
- 20- Bendich, A. (1993). Physiological Role of Antioksidants in the Immun System. *J. Dairy Sci.* 587, 2789-2794.
- 21- Bokoch, G.M and Reed, P.W. (1981). Effect of Various Lipoxygenese Metabolites of Arachidonic acid on degranulation of Polymorphonuclear Leukocytes. *J. Biol. Chem.* 256, 5317-5320.
- 22- Boros, D.L. (1980). Phagocytosis. P. 1249-1256. Ed. A.C. Sonnenwirth and L. Jarett. In: " Gradwohl' s Clinical Laboratory Methods and Diagnosis". 8th. ed, Toronto, London.



- 23- Boxer, L.A. (1986). Regulation of Phagocyte Function by  $\alpha$ - Tocopherol. Hroc. Nutr. Soc. 45, 333-344.
- 24- Boyne, R. and Arthur, J.R. (1979). Alteration of Neutrophyl Function in Selenium-Deficient Cattle. J. Comp. Path. 89,151-158.
- 25- Boyne, R., Arthur, J.R. and Wilson, A.B. (1986). An In Vivo and Study of Selenium Deficiency and Infection in Rats J. Comp. Path. 96, 380-386.
- 26- Burton, G.W. and Traber, M.G. (1990). Vitamin E: Antioksidant Activity, Biokinetics and Bioavailability. 10, 357-382.
- 27- Chow q, C.K. (1985). Vitamin E and Blood. Wld Rev. Nutr. Diet. 45.133-166.
- 28- Church, D.C. and Pond, W.G. (1982). Basic Animal Nutrition and feeding. Second ed. John Wiley and Sons Inc. Canada. 174-177.
- 29- Clausen, J. (1991). The Influence of Selenium and Vitamin E on the Enhanced Respiratory Burst Reakction in Smokers. Biological Trace Element Research. 131, 281-291.
- 30- Coleman, D.L. (1986). Regulation of Macrophage Phagocytosis. Eur. J. Clin. Microbiol. 5, (1), 1-5.
- 31- Coleman, R.M., Lombard, M.F., Sicard, R.E. and Renricca, N.S. (1989). Fundamental Immunology, WBC Publishers, Iowa, USA.
- 32- Combs, G.F. and Combs, B.S. (1986). The Role of Selenium Nutrition. Academic Press,Inc (London) ltd. 206-312.
- 33- Desai, I.D. and Scott, M.L. (1965). Mode of Action of Selenium in Relatiin to Biological Activity of Tocopherols. Archives of Biochemistry and Biophysics.110, 309-315.
- 34- Dhur, A. Galan, P. and Hercberg, S.(1990). Relationship Between Selenium and Resistance Against Infection. Comp. Biochem. Physiol. 96,(2),271-280.

- 35- Dieter, P.R., Combs, G.F., Lin, H.K. and Puzzi, J.V. (1990). Impact of Combined Vitamin E and Selenium Deficiency on Chicken Macrophage Function. *Ann. New York Acad. Sci.* 587,(4), 281-282.
- 36- Diken, H.- Şermet, A., Kelle, M., Denli, O. ve Aybak, M. (1994). Periton ve alveol makrofajlarının Fagositik Aktivitesine Vitamin C' nin Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi (J. Medical School)* 21,(2), 91-97.
- 37- Drapper, H.H. (1980). Nutrient Interrelationship. P.272-287. Ed. J.M. Lawrence In: "Vitamin E: A Comprehensive Treatise". Marcher Dukker Inc. New York.
- 38- Eicher-Pruiet, S.D., Morrill, J.L., Blecha, f. et al.(1992) Neutrophil and Lymphocyte Response to Supplementation with Vitamins C and E in Young Calves. *J. Dairy Sci.* 75, 1635-1642.
- 39- Gallo-Teres, H.E. (1980). Absorption. P. 170-267. Ed. J.M. Lavrence. In: "Vitamin E: A Compretensive Treatise.Marchel Dukker inc., New York.
- 40- Gerlof, B.J. (1992). Effect of Selenium Supplementation on Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 70,3938-3940
- 41- Grasso, P.J. Scholz, R.W. and Eberhart, R.J. (1990). Phagocytosis, Baktericidal and Oxidative Metabolism of Milk Neutrophyls from Dairy Cows Fed-Selenium-Supplemented and Selenium-Deficient Diets. *Am. J. Vet. Res.* 51,(2),269-274.
- 42- Gyang, E.O., Stevens, J.B., Olson, W.G., Tsitsamis, S.D. and Usenik, E.A. (1984). Effects of Selenium-Vitamin E Injection on Bovine Polymorphonucleated Leukocytes Phagocytosis and Killing of *Staphylococcus aureus*. *Am. J. Vet. Res.* 45,175-177.
- 43- Hamada, T. and Matsumoto, M. (1980) The Role of Vitamin E the
- 44- Harris, R.E., Boxer, L.A. and Baehner, R.L. (1978). Abnomal Membrane Function of Phagocytes from Vitamin E Deficient Rats. *Pediatr. Res.* 12. 464 (Abstract).

- 45- Harris, R.E., Boxer, L.A. and Baehner, R.L. (1980). *Blood*. 55, 338-343.
- 46- Hemila, H., Roberts, P., Wikström, M. (1984), Activated Polymorphonuclear Leukocytes Consume Vitamin C. *FEBS letters*, 178,(1), 25-30.  
Hemolysis of kid and Chick Erythrocytes with Twen - 20. *Experienta*.36,978-979.
- 47- Henricks, P.A.J., Verhoef, J. and Nijkamp, F.P. (1986). Modulation of Phagocytic Cell Function. *Vet. Res. Commun.*, 10,165-188.
- 48- Ho, C.T. and Chan, A.C. (1992) Regeneration of Vitamin E in Rat Polymorphonuclear Leukocytes. *Fed. Eur. Biochem. Soc. (FEBS)*. 306,(2,3) 269-272.
- 49- Hogan, J.S.,Smith, K.L., Weiss, W.P., Todhunter, D.A.,and Schockey, W.L. (1990). Relationship Among Vitamin E, Selenium, and Bovine Blood Neutrophils. *J. Dairy Sci.* 73, 2372-2378.
- 50- Hogan, J.S., Weiss W.P., Todhunter, D.A., Smith, K.L. and Schoenberge, P.S. (1992). Bovine Neutrophil Responses to Parenteral Vitamin E. *J. Dairy Sci.* 75, 399-405.
- 51- Jungueira, L. C., Carneiro, J. and Kelley, R.O. (1989). *Basic Histology*, 6 th Ed., Prentice-Hall International Inc., New Jersey.
- 52- Karakılıçık, A. Z. ve Aksakal, M. (1993). Selenyumun Bazı fizyolojik işlevleri, Metabolizması ve Vitamin E ile Arasındaki İlişkiler. 4, 283-291.
- 53- Keen, C.L. and Graham, T. W. (1989). Trace Elements. P.753-795. Ed. Koneko, J.J. In: "Clinical Biochemistry of Domestic Animals" '4 th ed. Academic Press Inc. New York.
- 54- Körner, W.F., Völlm, J. (1976). *Vitamins Roche Urban and Schwarzenberg*, München. 76 pp.
- 55- Kremidjian-Schumacher, L. and Stotzky, G. (1987). Selenium and Immun Responses. *Environmental Research* 42, 277-303.

- 56- Kutsky, R.J. (1981). Handbook of Vitamins, Minerals and Hormones. P. 157-207. 2 nd ed, VNR, New York.
- 57- McDowell L.R. (1989). " Vitamins in Animal Nutrition Comparative Aspects to Human Nutrition". P. 93-131. Academic Press. Inc., San Deigo, California.
- 58- McDowell- L.R., Conra, C.H., Ellis, G.L., et al. (1983). Minerals for Grazing Ruminants in Tropical Regions. Bulletin, 40-44.
- 59- Mills, C.F. (1970). Trace Elements Metabolism in Animals. Proceedings of WAAP/IBP International Symposium. London. 339-343.
- 60- Minson, D.J. (1990). Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press. Inc. London.
- 61- Moriguchi, S., Kobayashi, N. and Kishino, Y. (1989). Effects of Vitamin E Deficiency on the Functions of Splenic Lymphocytes and Alveolar Macrophages. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 35, 419-430.
- 62- Moriguchi, S., Kobayashi, N. and Kishino, Y. (1990). High Dietary Intakes of Vitamin E and Cellular Immun Functions in Rats. J. Nutr. 120, 1096-1102.
- 63- Nevberne, P.M. and Corner, M.W. (1989). The Vitamins. P.796-834. Ed. Koneko, J.J. In: "Clinical Biochemistry of Domestic Animals". 4 th ed, Acedemic Press Inc. New York.
- 64- Noyan, A. (1993). "Fizyoloji Ders Kitabı". Meteksan Anonim Şirketi. 8. Baskı, 697-713.
- 65- Ohman, H.B. and Babiuk, L.A. (1984). In Vitro Generation of Hydrogen Peroxide an Superoxide anion by Bovine Polymorphonuclear Neutrophilic Granulocytes, Blood Monocytes and Alveolar Macrophages Inflammation, 8, (3), 251-275.
- 66- Oldfield, J.E.(1987). The Two Faces of Selenium. J. Nutr. 117, (12), 2002-2008

- 67- Özdemir, G. (1993). Reaktif Oksijen Partikülleri (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller) . Roche Bilimsel Eserler Serisi.
- 68- Parnham, M.J. Winkelmann, J. and Leyck, S. (1983). Macrophage, Lymphocytes, and Chronic Inflammatory Responses in Selenium Deficient Rodents. Association with Decreased Glutathion Peroxidase activity. *Int. J. Immunopharmacol* 5, 455.
- 69- Podstawka, U., Grabarczyk, M. Kopec-szlezak, J. (1991) : Vitamin E Protects Human Leucocytes Against Toxic Effect Lindan In Vitro. *Materia Medica Polona*. 4,(80), 285-289.
- 70- Putnam, M.E., Comben, N. (1987). Vitamin E. *The Veterinary Record*. 12,541-545.
- 71- Raymond, J.S. (1986). Selenium Metabolism and Function. 4, 42-49.
- 72- Repo, R.C. (1987). Defects in Phagocytic Functions. *Annals of Clinical Research*. 19, (4), 263-279.
- 73- Rice, D. Kendy, S. (1988). Vitamin E: Function and Effects of Deficiency. *Br. Vet. J.* 144,482,496.
- 74- Roels, O.A. (1967). Present Knowledge of Vitamin E. *Nutrition. Reviews*, 25,33-39.
- 75- Roit, I.M. Brostoff, J. and Male, D.K. (1990). "Immunology". Gower Medical Publishing, London.
- 76- Rotrosen, D. and Gallin, J.I. (1987). Disorders of Phagocyte Function. *Ann. Rev. Immuno.*, 5,127-150.
- 77- Sakomato, W., Yoshikova, K., Shindoh, M. et al. (1989). In vivo Effects of Vitamin E on Peritoneal Macrophages and T-kininogen Level in Rats. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 59, 131-139.
- 78- Serfass, R.E. and Ganther, H. (1975). Defective Microbicidal Activity in Glutathione Peroxidase Deficient Neutrophils of Selenium-deficient Rats. *Nature*, 225, 640-641.

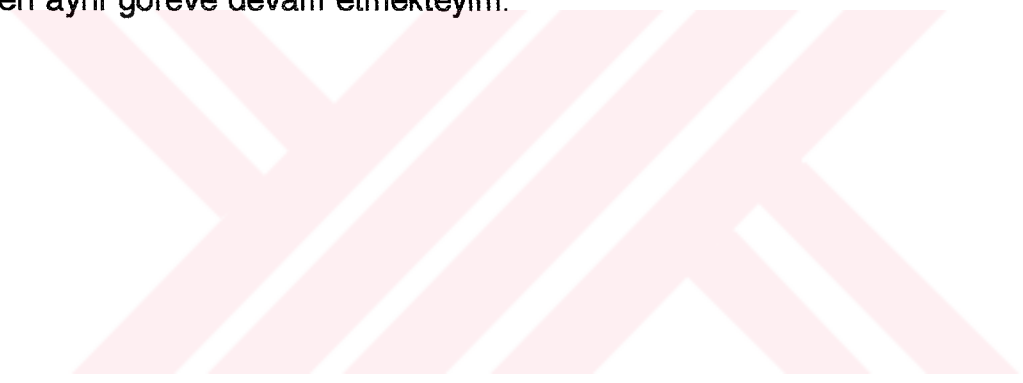
- 79- Shamberger, R.J. (1986). Selenium Metabolism and Function. Clin.Physiol. Biochem. 4,42-49.
- 80- Siddons, R.C. and Mills, C.F. (1981). Glutathione Peroxidase Activity and Erythrocyte Stability in Calves Differing in Selenium and Vitamin E Status? Brit. J. Nutr.46, 345-355.
- 81- Simpson, D.W., Roth, R. and Loose, L.D. (1979). A Rapid, Inexpensive and Easily Quantified Assay for Phagocytosis and Microbicidal Activity of Macrophages and Neutrophils. J. Immun. Methods. 29, 221-226.
- 82- Stites, D.P. and Terr, A.I. (1991). Basic and Clinical Immunology. 7 th Ed., Appleton and Lange Press, California.
- 83- Tanaka, J., Fujiwara, H. and Torisu, M. (1979). Vitamin E and Immune Response. Immunology. 38, 727-731.
- 84- Tengerdy, R.P., Heinzerling, R.H., Brown, G.L. and Mathias, M.M. (1972). Enhancement of the Humoral Immune Response by Vitamin E. Int. Arch. Allergy. 44, 221-232.
- 85- Terzioğlu, M., Yiğit, G. ve Onur, T. (1993). "Fizyoloji Ders Kitabı" Cilt II, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.60- Tietz, N.W. (1986) Nutrition, Vitamins and Trace Elements. P. 902-996. In: "Textbook of Clinical Chemistry". W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- 86- Turner, R.J. and Finch, J.M. (1991). Selenium and the Immune Response. Proceed. Nutr. Soc. 50, 275-285.
- 87- Türker, H. (1988). "Bilimsel Yönleriyle Tavuk Besleme". 1. Baskı, İstanbul.
- 88- Tietz, N.W. (1986) Nutrition, Vitamins and Trace Elements. P. 902-996. In: "Textbook of Clinical Chemistry". W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- 89- Ulrey, D.E (1981). Vitamin E for Swine. J. Anim. Sci. 53,(4),1039-1055.
- 90- Ullery, D.E. (1992). Basis for Regulation of Selenium Supplements in Animal Diets. J.Anim.Sci. 70,3922-3927

- 91- Underwood, E.J.(1977). Trace Element in Human and Animal Nutrition 4th Ed. Acad. Press. New York. 303-346
- 92- Vatesery, G.T. (1987). In Vtro Oxiddation of a-Tocopherol (Vitamin E) in Human Plateletes Upon Incubation with Unsatured Fatty Acids, Diamide and Superoxide. Biochemica Biophysica acta. 926, 160-169.
- 93- Waynforth, H.B. (19807) Experimental an Surgical Technique in the Rat. Academic Press Inc., New York. P.234-235.
- 94- Wiss, O., Bunnel, R.H. and Gloor, U. (1965). Absorbsiasand Distribution of vitamin E in the tissues. Vitam. horm. 20,441-445.
- 95- Zintzen, H. (1975) Fat Soluble Vitamins in the Nutrition Of Ruminants. Seminar for the Feed Industry, Animal Nutrition of Events Roche, Tokyo 28 pp.
- 96- Zintzen, H. (1978). A Summary of the vitamin E/Selenium Problem in Ruminnants. New and reviewes, Roche. I, 18.
- 97- Zinkl, J.G. (1989). Leukocyt Function. P.316-337. Ed. Koneko, J.J. In: "Clinical Biochemistry of Domestic Animals". 4 th ed, Acedemic Press Inc. New York.



## ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Şanlıurfa' da doğdum İlk ve Orta öğrenimimi aynı ilde tamamladım. 1985 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandım ve 1990 yılında mezun oldum. 1991-1992 öğretim yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında doktora başladım. Bir yıl sonra aynı Fakülteye Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen aynı göreve devam etmekteyim.



## TEŞEKKÜR

Doktora çalıŐmalarım sũresince hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan devamlı yardım, ilgi ve alakasını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç.Dr. Mesut AKSAKAL' a, değerli yardımlarından dolayı mesai arkadaŐım Sayın ArŐ.Gör. Mustafa NAZIROğLU' na, S.Demirel Ő. Tıp F. Mikrobiyoloji A.B.D.' da Sayın Dr. Mustafa DEMİRCİ' ye ve ayrıca bilgi ve yardımlarından faydalandığım Dicle Ő. Tıp F. Fizyoloji A.B.D.' da Sayın Doç.Dr. Abdurrahman ŞERMET' e sonsuz Őũkranlarımı sunarım.

