

KOBAYLARDA DİETİN KARACİĞERDEKİ BAZI ENZİMLERE ETKİSİ

(x) Dr. Şermin KALAYCI

ÖZET

Normal ve proteinsiz dietle beslenen kobaylarda karaciğerde asit ve alkalen fosfataz enzimleri histokimyasal yolla incelendi. Neticeler proteinsiz diet alan kobaylarda, alkalen fosfatazda bir değişme olmadığını, asit fosfataz enziminde ise çok az bir azalma olduğunu gösterdi.

1. GİRİŞ :

Hücre metabolizmasında oluşacak değişiklikler, hiç şüphesiz enzim aktivitesindeki bazı farklılıklara yol açar. Özellikle enzimatik varyasyonlar, hücrenin değişen metabolizmasıyla ilişkili enzimlerde artma yada azalma şeklinde belirir. Karaciğer, bilindiği gibi portal sistem aracılığıyla gelen çeşitli gıdaların asimilasyonunun ilk yapıldığı yördür, yani dietteki özelliklerin başlıca etkisinde kalan organdır. Gıdalanmanın organizma üzerine etkileri pekçok araştırmaya konu olmuştur ve çoğu çalışmada enzimatik değerlendirme biokimyasal yolla yapılmıştır. Biokimyasal uygulamada dokunun gramı başına yüzde olarak enzim tayini yapılmaktadır. Kwashiorkor'da yağlı karaciğer beklenirse de açlıkta yağ tüketimi olur. Bu koşullarda biokimyasal yolla enzimatik değerlendirmelerde hataların ortaya çıkması muhtemeldir (1).

Enzimatik histokimyasal metotlarla hem daha doğru sonuca gidilir ve hem de hücrenin enzimatik yerleşimi aksettirildiğinden, daha değerli kabul edilebilir kanısındayız.

Yapılan çalışma, deneysel yolla protein yetersizliği modeli yaratılarak, karaciğerdeki enzimlerden yalnızca alkali ve asit fosfatazdaki değişiklikleri ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

2- MATERYEL VE METOD :

Ortalama 50 gr. ağırlığında ve aynı yaşta kobaylar denemede kullanıldı. Kobaylar denemenin başında ve sonunda tartıldı. Havuç, ıspanak ve vitaminli suni yemden (Yem sanayiinin) oluşan dietle 6 hafta beslenen 5 kobaydan kontrol olarak faydalandı. 5 kobay da aşağıda belirtilen formüldeki proteinsiz dietle (2) aynı süre beslendiler.

Proteinsiz rasyon	%	gr
Pirinç nişastası	50	400
Margarin	15	100
Glukoz	15	120
Patates nişastası	10	80
Mineral korme	5	40
Vitamin korme	5	40

Belirtiler sürenin sonunda hayvanlar eterle bayıltılarak batin açıldı. Karaciğerler çıkarıldı. Değişik bölgelerden alınan örnekler aşağıda belirtilen metotlara uygun fiksatiflere alındı, parafin bloklar yapılarak, kesim uygulandı. Alkalen fosfataz için Gomori'nin "Kobalt Sülfid metodu" (3), asit fosfataz için Gomori'den modifiye "kurşun nitrat metodu" (3) kullanıldı.

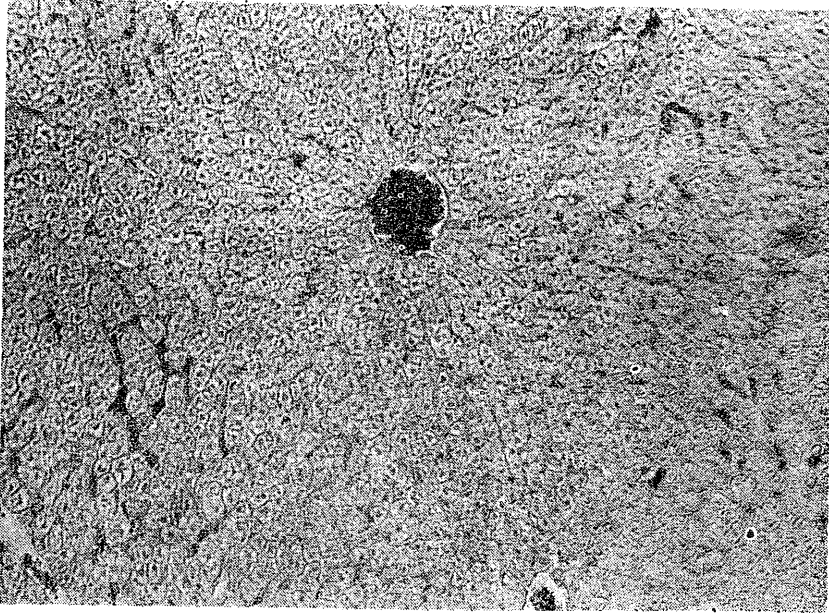
Boyamanın kontrolü 0,01 M sodyum floridde inkübe edilen preparatlarla yapıldı. İnkübasyon zamanında değişimler yapılarak sonuçlara etkisi incelendi.

3- BULGULAR :

Proteinsiz dietle 6 hafta beslenen kobaylar, denemenin sonunda çok zayıf lamışlardı (ortalama olarak % 50-55 oranında). Tüyleri dökük, cilt altı dokusu erimiş, halsiz, dengesiz, sesleri bile zor çıkar durumda idiler. Açıldığında yağ dokusunun az oluşu ve organların konjestione durumu dikkati çekti. Normal dietle beslenen kobaylarda total kiloda % 20-24 oranında artış kaydedildi.

Normal dietle beslenen kobaylarda :

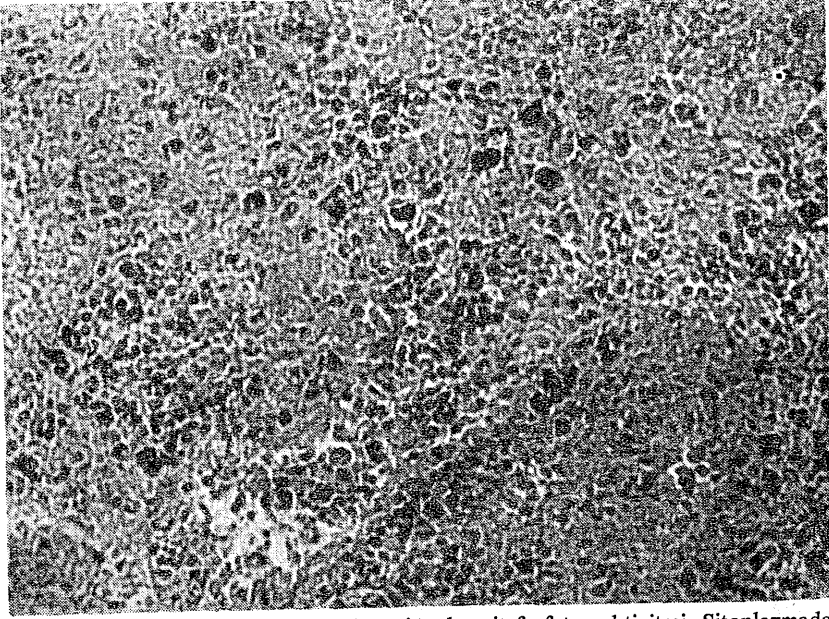
A) *Alkalen fosfataz aktivitesi:* Bütün karaciğer lobülleri benzer görünümde, olup lobül içindede enzimatik dağılım aynı idi. Enzim v. centralis ve sinusoid endotellerinde ortaya şiddette belirgindi. Karaciğer hücre sitoplazmasında enzim hiç yoktu. Portal mesafedeki safra kanallıklarında de enzimatik aktiviteye rastlanmadı (Resim : 1).



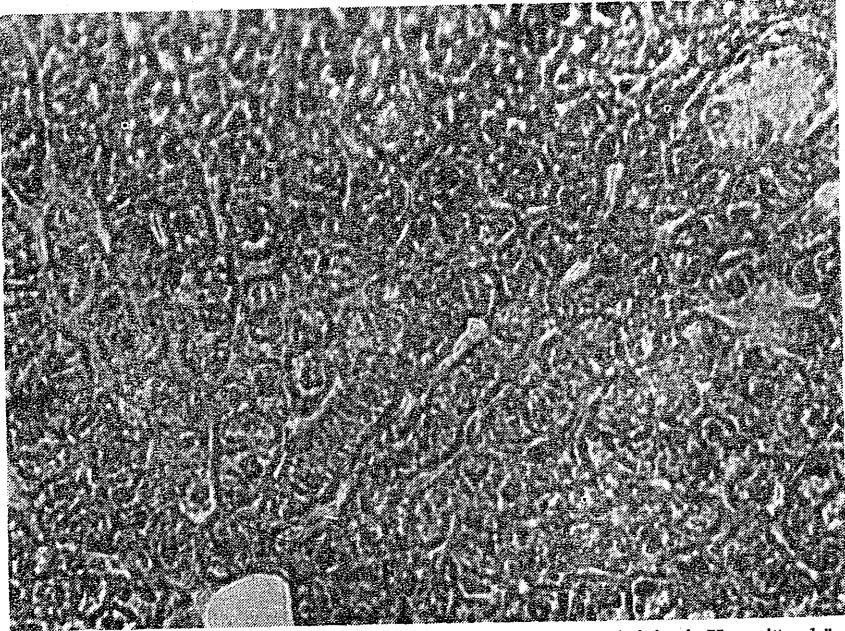
Resim 1: Normal dietle beslenen kobaylarda, karaciğerde alkalen fosfataz enzim aktivitesi. Karaciğer hücre sitoplazmalarında enzim hiç bulunmamakta, X100

B) *Asit fosfataz aktivitesi*: Karaciğer genel görünüşü ile bu enzimden zengindi. En çok, çekirdeklerle hücre membranlarında enzim bulunmakta,

hücre sitoplazmalarında pek çok dağınık granül şeklinde yerleşim göstermekte (resim 2-3) idi. İnkübasyon zamanı uzun tutulduğunda, özellikle çekirdeklerde enzim belirgin şekilde seçilmekteydi.



Resim 2: Normal diyetle beslenen kobayda, karaciğerde asit fosfataz aktivitesi Sitoplazmadaki granül miktarı hüresel farklar göstermekte X100



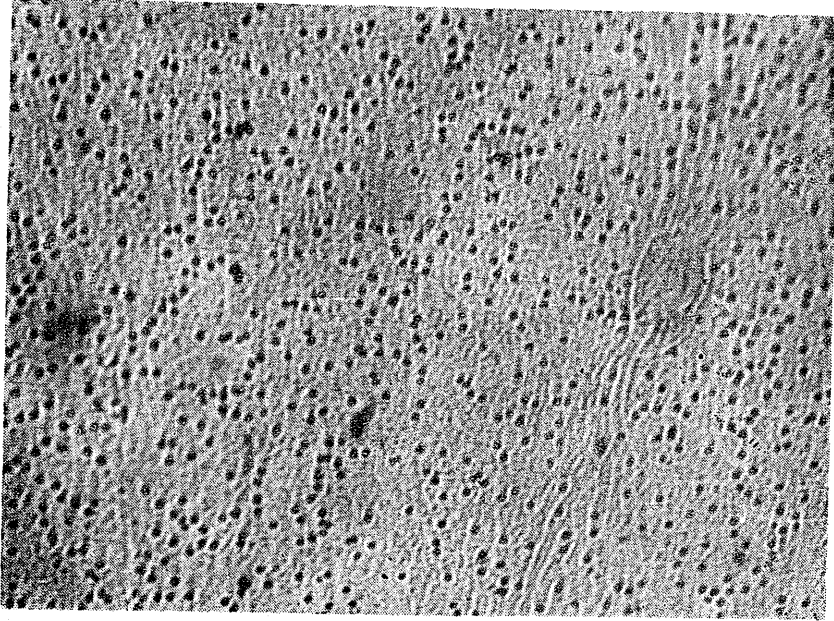
Resim 3: Normal diyetle-beslenen kobayda, karaciğerde asit fosfataz aktivitesi Karaciğer hücre membranı, -sitoplazması ve çekirdeğinde yerleşim göstermekte X250

(resim 4). Kupfer hücreleri, enzimce aktif görünümde olup, portal mesafede, safra kanalikülleri çevresinde granül şeklinde enzim pozitif sahalar seçilmekte idi. Enzimatik dağılımda karaciğer hücrelerin de belirli bir zonlanma göstermeksizin farkın bulunmakta oluşu dikkati çekti. *Proteinsiz dietle beslenen kobaylarda:*

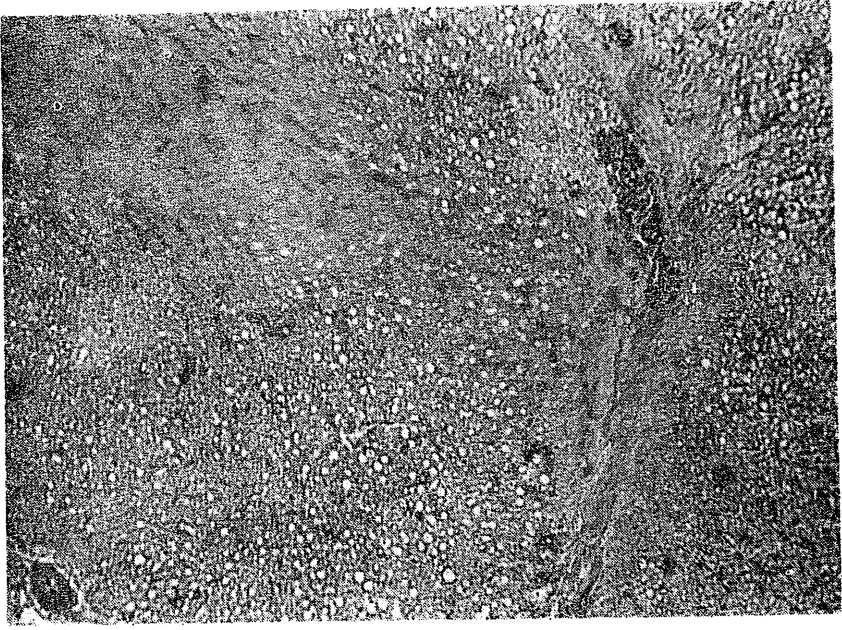
Alkalen fosfataz aktivitesi : Genel olarak karaciğer lobüllerinin periferik kısımlarında, yağlı degenerasyon görünümü hakimdi. Sentral kısımlardaki karaciğer hücrelerinde normal diyetle beslenen kobaylarda olduğu gibi sitoplazmik enzim aktivitesi yoktu. Damar endotellerindeki enzimatik aktivite kontrollardan bir fark göstermemekteydi. Bazı preparatlarda geniş nekroz sahaları

dikkati çekmekte ise de, bu sahaların enzimden tamamen mahrum olduğu görüldü (Resim 5).

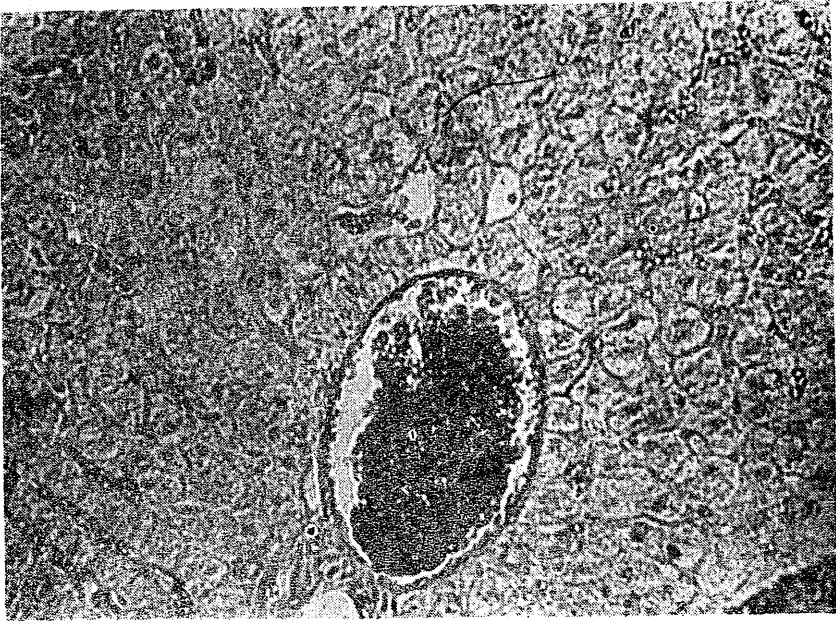
Asit fosfataz aktivitesi : Lobüllerin merkezinde bulunan karaciğer hücrelerinde hücre membranı, çekirdek ve sitoplazmada bulunan enzimatik aktivitenin; boyanma ve sitoplazmik granül sayısında kontrol hayvanlarının karaciğerlerindeki enzim aktivitesine kıyasla çok az bir azalma olduğu saptanmaktaydı. Nekroz sahalarında enzimatik aktivite yoktu. Kupfer hücreleri, enzim açısından kontrollerle bir fark göstermemekteydi. 0,01 M sodyum florid ile inkübe edilen preparatlarda yukarıda belirtilen yerlerde enzim görülmedi (Metodun kontrolü).



Resim 4: Normal diyetle beslenen kobaylarda, uzun süre inkübasyona bırakılan karaciğerde, asit fosfataz aktivitesinin yalnızca çekirdekte belirli olarak görülüşü X100



Resim 5: Proteinsiz dietle beslenen kobaylarda, karaciğerdeki özellikle lobüllerin periferinde yerleşim gösteren yağlı degeneresans sahaları Alkalen fosfataz reaksiyonu X100



Resim 6: Proteinsiz dietle beslenen kobaylarda, karaciğerde asit fosfataz -aktivitesi X250

4- TARTIŞMA :

Çalışmada, proteinsiz dietle beslenen kobaylarda benzeri çalışmalar göz önüne alınarak (4) deneme süresi 6 hafta olarak kabul edilmiştir. Deneme sonunda, kanda total protein analizi yapılmamışsa da, kıllarda aşırı dökülme, inaktivasyon ve kilo kaybı protein yetersizliğine kriter olarak alınmıştır. Robert Bradfield (5) malnutrisyonlu hayvanlardaki çalışmaları sonucu, kıl kökü ve matriksinin vucutta en yüksek protein sentez yeri oluşunu dikkate alarak, protein sentezini azaltıcı herhangi bir etken karşısında kılta değişikliklerin belireceğini ve malnutrisyonun en erken tanımında kıl kökü atrofisinin ve diğer belirtilerin gözlenmesinin yerinde olacağını ortaya koymuştur.

Kaynaksal bilgilere göre(6) karaciğer hücrelerindeki enzimlerin dağılımı portal ve sentral hücreler arasında farklar göstermektedir. Alkalen ve asit fosfataz enziminin dağılımıyla ilgili bir farka, taranan literatürlerde raslanmadı. Sadece protein yapımında lobuler zonlamanın varlığından bahsedilmektedir(7). Ayrıca bahsedilen enzimlerin normaldeki dağılımı çeşitli tür hayvanlarda farklar göstermektedir(8). Kobaydaki enzimatik dağılımın özelliklerine başvuru kaynaklarda rastlanmıştır. Bu nedenlerle bulgularımızı kıyaslama olanağı elde edilememiştir. Burada, histokimyasal çalışmalarda yapılan değerlendirmenin sadece gözle yapıldığını, yani subjektif oluşunu özellikle kaydetmek isteriz.

Karaciğer hücre sitoplazmasında bulunmayan alkalen fosfataz enziminin proteinsiz dietle beslenen kobaylarda, damar endotellerinde yerleşim ve reaksiyon şiddeti kontrol hayvanlarınkinden pek farklı görülmemiştir. Bu bulgumuz, Barbutta ve arkadaşlarının (9) bulgusuna uymamaktadır. Bu araştırmacılar, alkalen fosfatazda az miktarda azalmanın bulunuşunu kaydetmişlerdir. Summers ve arkadaşları ise proteinsiz diette beslenen hayvanlarda alkalen fosfataz yönünden bir değişme olmadığını belirtmişlerdir(1). Alkalen fosfatazın glucid, nükleoprotein, fosfolipit ve protein metabolizması ile ilgisi bilinmektedir (9). Proteinsiz rejimde, başlangıçta ilgili enzimlerde aşırı bir artma ile karaciğer protein sentezi stimüle olabilir, fakat uzun süren proteinsiz beslenme sonucu alkalen fosfataz da bir azalma veya normal sınırlarda görülüşü beklenir. Proteinsiz dietle beslenme durumlarında karaciğerde protein sentezinin arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (4,10). Nitekim Proteinden zengin dietle beslenmede alkalen fosfataz aktivitesinde bir değişikliğin bulunmadığı (11) sonucu, bizim bulgularımıza uymaktadır.

Proteinsiz diette asit fosfataz aktivitesindeki azalma bulgumuz, bu konudaki bilgileri doğrulamaktadır (1,9).

Dietin kalitesindeki değişiklikler, karaciğer hücre metabolizmasında da varyasyonlar meydana getirir. Bu durum enzimlerin histokimyasal metotlarla değerlendirilmesi yoluyla ortaya konabilir.

SUMMARY

The Diet's Influence on the Some Enzymes of the Liver in Guinea-Pigs.

Alkaline phosphatase and acid phosphatase were investigated histochemically in the Liver of guinea-pigs. The guinea pigs were fed by protein-free and normocaloric commercial diet.. Protein-free diet produced very slight decrease of acid phosphatase, but no effect on the alkaline phosphatase.

KAYNAKLAR

- 1-J.D. Summers and Hans Fisher: Effect of different protein depletion Regimens on nucleic acid and enzyme activity in the liver. J. Nutrition 76: 187-189, 1962.
- 2- Ekin Şahin : Bitkisel ürünler katılmış sosislerin net protein yarırlılık dereceleri ve organoleptik özellikleri üzerine araştırma. Ankara Ü. Zir fak. Mez. mah. Tek. Tek . Kür. asistanı (tez) s: 24-26, 1971.
- 3- Davenport : Histological and Histochemical Technics. Saunderks comp. 1960.
- 4- Platt, B.S., K. Halder and B.H. Pathology of acute experimental protein malnutrition in force-fed rat. Proc. Nutr. Soc. 21:5, 1970.
- 5- R. Bradfield : Protein deprivation comparative response of hair roots, serum protein and urinary nitrogen. Am. J. Clin. Nutr. vol. 24, No:4, 405-410, 1971.
- 6- Frank A. Welsh : Changes in distribution of enzymes within the liver lobule during adaptive increase, J. Hist. Cytochem. 20:2, 107-111, 1972.
- 7- Bouton A.V.: Radio- autographic evidence for a zone of increased protein metabolism in the rat liver. Anat. Rec. 157: 267-277, 1967.
- 8- M. Wachstein : Enzymatic histochemistry of the liver. Gastroentr. 37:525-527, 1959.
- 9- R. Barbuta et al.: Resherches histoenzymologique chez les jeunes rats a regimes carances. Ann. D'Hist. 14:333-348, 1969.
- 10- Sidransky H., E. Verney : Studies. on hepatic polyribosomes and protein synthesis in rats force-fed a protein free diet. J. Nutr. 101:1153-1164, 1971.
- 11- E. Housset, R. Wegmann et al.: Influence de regime alimentaire sur activites histo-enzymatique du foi et de L'intestine rat. Ann. Histochem. 12:1 379-390, 1967.