

Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Arginazının Oluşumu, Gelişimi ve Çeşitli Organlardaki Dağılımı

Sema Temizer OZAN, Mine ERİŞİR

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ - TÜRKİYE

Naim SAĞLAM

Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 08.01.1998

Özet : Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Cip Balık Üretim ve Araştırma Tesisi'nden alınan Gökkuşluğu alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) sperma, yumurta, döllenmiş yumurta ve 3 haftalık larvadan 25 haftalık oluncaya kadarki döneminde haftalık olarak arginaz (L-arginin amidinohidrolaz E.C. 3.5.3.1) enzim aktivite düzeylerine bakılmıştır. *Oncorhynchus mykiss*'in organları mikroskop altında diseke edilmeye başlanınca organlardaki arginaz enziminin dağılımı saptanmıştır.

Sperma, yumurta, döllenmiş yumurta ve 3 haftalığa kadar olan alabalıklarda arginaz aktiviteleri ölçülemeyecek düzeydedir. Balıklarda 3. haftadan itibaren enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir. 3 ile 25 haftalık larvaların arginaz aktivite düzeylerindeki değişimin ise 0.018 ± 0.001 ile 4.31 ± 0.26 üniteler arasında olduğu bulunmuştur. Balıklar 8 aylık olunca organları diseke edilmeye başlanmış, 8 ile 18 ay arasında diseke edilebilen dokularda arginaz aktivitesinin dokulara göre dağılımı incelenmiş; böbrekte 3.76 ± 3.07 , deride 2.52 ± 1.88 , gözde 0.63 ± 0.30 , karaciğerde 19.08 ± 4.05 , kasta 1.01 ± 0.73 ve solungaçta 1.33 ± 0.50 ünite olarak bulunmuştur. Sindirim sistemi ve dalakta arginaz aktiviteleri ölçülemeyecek düzeydedir.

Anahtar Sözcükler : Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Arginaz

Arginase Occurrence, Development and Distribution in Various Organs of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Abstract : Arginase (L-arginine amidinohydrolase; E.C. 3.5.3.1) enzyme activity levels in sperm, egg, fertilized egg and larvae (up to 25 weeks) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) taken from Fırat University, Faculty of Fisheries, Cip Fish Breeding Station were observed weekly. When the organs of rainbow trout were dissected under microscope, enzyme distribution in organs were investigated.

Arginase activities in sperm, egg, fertilized egg and rainbow trout (up to 3 weeks) were at unmeasurable level. Increase of enzyme activity was observed in fish after third week. Between the three and twenty five weeks of larvae arginase activity levels were between 0.018 ± 0.001 and 4.31 ± 0.26 units. The organs were dissected when the fish became 8 month old. The distribution of arginase activity in tissues dissected between 8 and 18 months was examined; In kidneys 3.76 ± 3.07 , skin 2.52 ± 1.88 , eyes 0.63 ± 0.30 , liver 19.08 ± 4.05 , muscle 1.01 ± 0.73 and in the gill 1.33 ± 0.50 units. Arginase activity of digestive system and spleen were at unmeasurable level.

Key Words : Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Arginase

Giriş

Nitrojen metabolizmasında merkezi rol oynayan, başlıca amino asit katabolizmasından ve diğer kaynaklardan meydana gelen amonyak, çok toksik olması nedeni ile canlı organizmasından en kısa zamanda uzaklaştırılmaktadır. Amonyakın organizmadan atılma şekli canlının yaşadığı ortamdaki suyun miktarına bağlıdır. Suda yaşayan canlılar, memeliler hariç, amonyağı hiçbir değişikliğe uğratmadan atarken, karada yaşayan canlılar ise ortamda yeterli düzeyde su varsa amonyağı üre

halinde, su düzeyi çok az ise ürik asit halinde atarlar. Başka bir deyişle canlılar, azot metabolizması son ürününe göre amonyatelik, üreotelik ve ürikotelik olarak sınıflandırılırlar (1-4).

Nitrojenin düzenlenmesinde ve amonyak detoksifikasyonunda görev alan "Krebs Henseleit Üre Döngüsü" nün tümü üre sentezinde görevli enzimlerle birlikte karaciğerde bulunur. Arginaz (L-arginin amidinohidrolaz E.C. 3.5.3.1) üre döngüsünün son enzimi olup, L-arginini üre ve ornitine hidrolize eder (4).

Ancak arginaz enzimine, üre sentezleyemeyen (non üreotelik) canlı ve dokularda da rastlanmakta olup enzim bakteriden insana kadar (*Neurospora crassa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus anthracis*, solucan, *M. expansa*, salyangoz, balık, kertenkele, fare, tavşan, köpek, at, siğir, domuz, maymun, insan....) geniş bir dağılım göstermektedir (5-7).

Non üreotelik canlı ve dokularda arginaz enziminin bulunuşunu Brown ve Cohen (5), canlıların nitrojenin düzenlenmesinde üre döngüsünden başka metabolik yolları kullanmaları nedeni ile döngünün diğer enzimlerinin repress (baskı altına alınması) olmasına veya silinmesine başlamaktadırlar.

Amonyatelik bir canlı olan balıklarda da arginaz enziminin varlığı saptanmıştır (5,8,9).

Gökkuşluğu alabalığının, çevre koşullarına iyi uyum göstermesi ve dayanıklı olması, kolay yemlenmesi ve çabuk gelişmesi, sağım, döl alımı, yavru beslenmesinin kolay olması, uzun yıllardan beri kültürü yapılması nedeniyle yetiştiriciliği tercih edilmektedir (10).

Çalışmada Gökkuşluğu alabalığındaki argininin oluşumu, gelişimi ve çeşitli dokularındaki dağılımı incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Araştırma materyalleri Elazığ ilinin Cıp Köyünde, Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesinin, Cıp Balık Üretim ve Araştırma Tesisinden Su Ürünleri Fakültesinin öğretim üyeleri tarafından temin edilmiştir. Balıklar Gökkuşluğu alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) türüdür.

Alabalıkların sırası ile sperma, yumurta, döllenmiş yumurtaları, döllenmiş yumurtalardan larva çıkmaya başladıktan sonra ve larvalar 25 haftalık oluncaya kadar, her hafta alabalık larvaları alınmıştır. Alabalıkların 25. haftadan sonra iç organları diseksiyon mikroskop (Kyowa) altında diseke edilerek, karaciğerleri, dalakları, sindirim kanalları, gözleri, derileri, böbrekleri, kasları ve solungaçları ayrı ayrı alınarak en kısa zamanda laboratuara taşınmıştır. Spermalar distile su ile 1/10 (v/v) oranında, yumurta, döllenmiş yumurta, larvalar ve mikroskop altında diseke edilen doku örnekleri ise tam 1 g olarak tartılıp distile su ile 1/10 (w/v) oranında sulandırılmıştır. Sulandırılmış materyaller, kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörde homojenize edilmiş, elde edilen homojenatlar soğutmalı

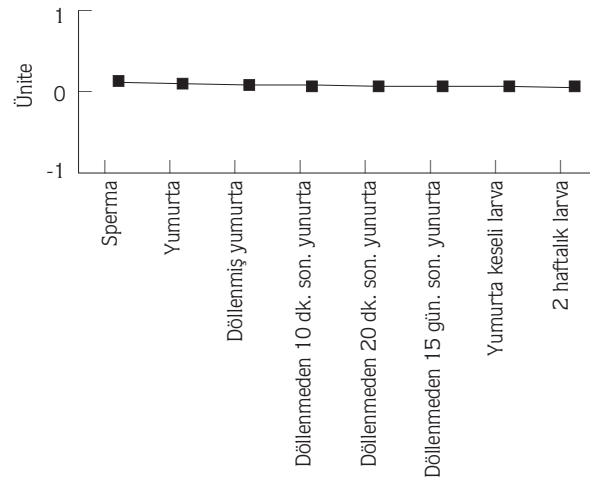
santrifüjde (Sorvall RC-5B) 15 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

Örneklerdeki arginaz aktivite düzeyleri TDMU (11), protein miktarları ise modifiye edilmiş Biüret (12) yöntemi ile saptanmıştır.

Ünite: $\mu\text{mol üre/ mg protein/ saat}$

Bulgular

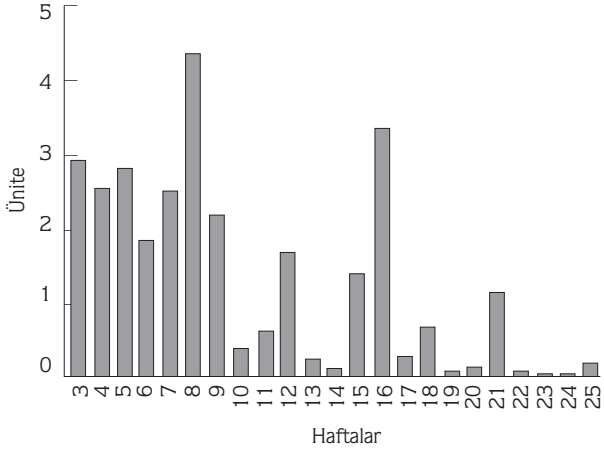
Sperma, yumurta, döllenmiş yumurta, döllenmeden 10 ve 20 dakika sonra alınan yumurta, döllenmeden 15 gün sonra alınan yumurtalarda ve yumurtadan çıkan larvalarda arginaz aktiviteleri ölçülemeyecek düzeydedir (Şekil 1).



Şekil 1. Alabalığın sperma ve yumurtadan itibaren 2 haftalık larva dönemine kadar olan arginaz aktivite düzeyleri.

3. haftadan itibaren larvalarda enzim aktivitesinde artışlar gözlenmeye başlanmış, 3 ile 25 haftalık larvaların arginaz aktivitelerindeki değişimin 0.018 ± 0.01 ile 4.31 ± 0.26 üniteler arasında olduğu saptanmıştır (Şekil 2).

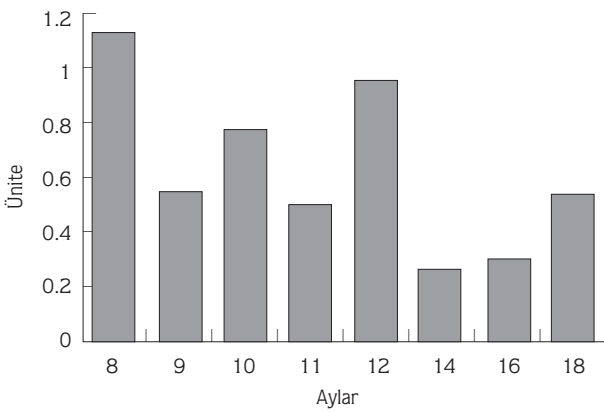
Balıkların 8. aydan itibaren dokuları mikroskop altında diseke edilebildiğinden, diseke edilebilen doku örneklerinde 8 ile 12. aylar arasında aylık olarak, 12. ay ile 18. aylar arasında ise her iki ayda bir arginaz aktivite düzeylerine ve protein miktarlarına bakılmıştır.



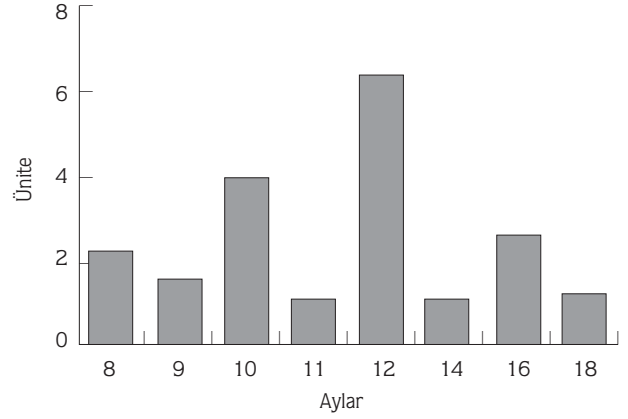
Şekil 2. Alabalığın 3 haftalık larvadan 25 haftalık oluncaya kadarki dönemde haftalık arginaz aktivite düzeylerindeki değişimler.

8 ve 18. aylar arasında enzim aktivitesindeki değişim ortalama olarak; gözde 0.63 ± 0.3 (Şekil 3), deride 2.52 ± 1.88 (Şekil 4), solungaçta 1.33 ± 0.50 (Şekil 5), kasta 1.01 ± 0.73 (Şekil 6) arasındadır.

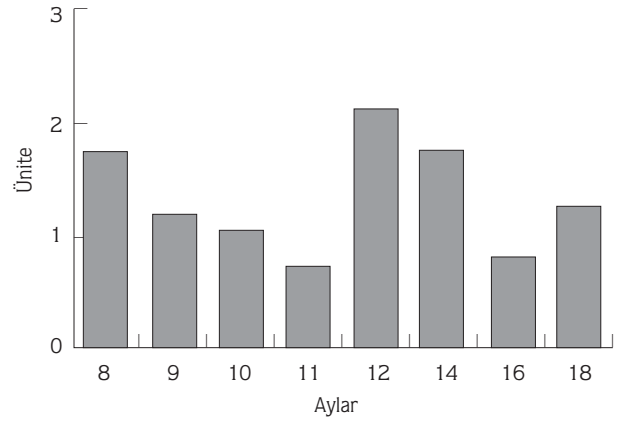
Gökkuşluğu alabalığının dokuları arasında en yüksek aktiviteye karaciğerde rastlanmış olup, 8-18. aylar arasında enzim aktivitesindeki değişim 19.08 ± 4.05 'tir (Şekil 7). Karaciğerden sonra en yüksek aktiviteye böbrekte rastlanmış olup, 12. aya kadar aktivite artmakta, 12. aydan 18. aya kadar ise aktivite düşmektedir (Şekil 8). 8-18. aylar arasında dalak ve sindirim sistemindeki arginaz aktiviteleri ölçülemeyecek düzeylerde.



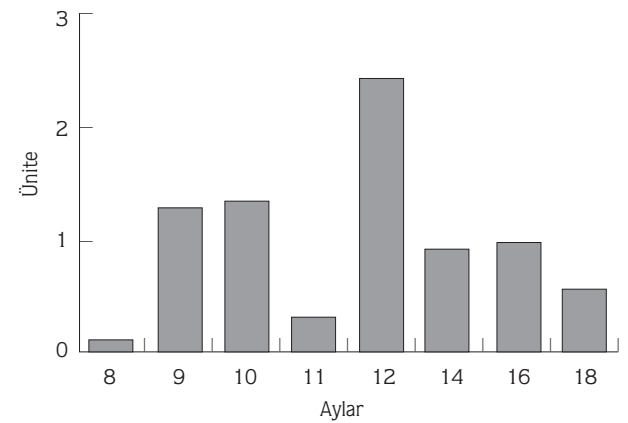
Şekil 3. 8. ile 18. aylar arasında Alabalığın gözündeki arginaz aktivite düzeyleri.



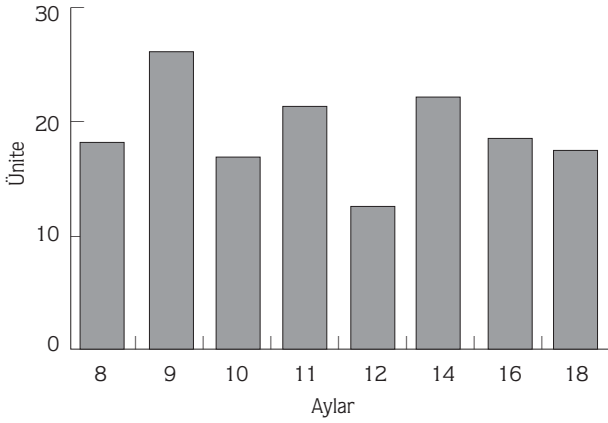
Şekil 4. 8. ile 18. aylar arasında Alabalığın derisindeki arginaz aktivite düzeyleri.



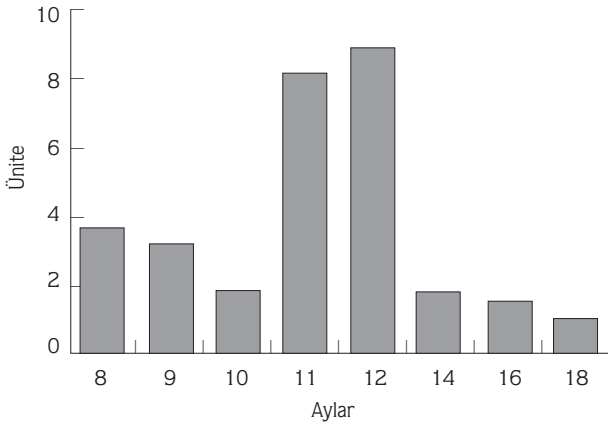
Şekil 5. 8. ile 18. aylar arasında Alabalığın solungaçındaki arginaz aktivite düzeyleri.



Şekil 6. 8. ile 18. aylar arasında Alabalığın kasındaki arginaz aktivite düzeyleri.



Şekil 7. 8. ile 18. aylar arasında Alabalığın karaciğerindeki arginin aktivite düzeyleri.



Şekil 8. 8. ile 18. aylar arasında Alabalığın böbreğindeki arginin aktivite düzeyleri.

Tartışma

Amonyatelik bir canlı olan Gökkuşuğu alabalığı amonyağı hiç değişikliğe uğratmadan solungaçları vasıtası ile uzaklaştırmaktadır. Çalışmada, karaciğerinde üre döngüsü bulunmayan ve amonyağı üre halinde uzaklaştıramayan gökkuşuğu alabalığının, larvalarında yumurtadan çıktıktan sonra, 3 haftalık olunca arginin enzim aktivitesi görülmeye başlanmış (Şekil 2) ve 8. aydan itibaren mikroskop altında diseke edilebilen dokularında da yine arginin aktivitesi saptanmıştır (Şekil 3-8).

Ozan ve ark. (8), su kirliliğinin saptanmasında argininin işaret bir enzim olup olmayacağını saptamak için, su kirliliğinin bulunduğu ve bulunmadığı bölgelerden alınan *Capoeta trutta* balıklarının çeşitli organlarında arginin aktivite düzeylerine bakmışlar, tatlı su balığı *Capoeta trutta*'nın dokuları arasında en yüksek aktiviteye sırası ile böbrekte ve dalakta, en düşük aktiviteye ise karaciğerde rastlamışlardır. Teresita ve Anders (9), çeşitli türlerdeki deniz balıklarında yaptıkları araştırmaların sonucuna göre argininin en yüksek düzeyde karaciğerde bulunduğunu bildirmektedirler.

Bu çalışma da, Teresita ve Anders'in sonuçlarına paralel olup, en yüksek aktivite sırası ile karaciğerde ve böbrekte (Şekil 7,8), ölçülemeyecek düzeyde aktivite ise sindirim sistemi ve dalakta tespit edilmiştir.

Balıklar nonüretelik canlılar olmasına rağmen deniz balıklarında karaciğer arginininin yüksek olmasının nedeni gerekli osmotik basıncı sağlamak için daha fazla ürenin üretimidir. Çünkü deniz balıklarında osmotik basıncı dengelemek için gerekli olan ürenin, karaciğerde yapılarak diğer dokulara gönderildiği belirtilmektedir (13).

Kaynaklar

1. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. and Rodwell V.W., Metabolism of Proteins and Amino Acids. 267-330. In: "Harper's Biochemistry". Twenty-second ed., Typopress, Lebanon, 1991.
2. Rawn J.D. Catabolism of Amino Acids and the Urea Cycle. 457-487. In: "Biochemistry". First ed., Carolina Biological Supply Company, Burlington, North Carolina, 1989.
3. Gözükara E.M. Amino Asitlerin Oksidasyonu. 1009-1046. "Biyokimya". Birinci Baskı, Ofset Repromat Ltd.Şti., Ankara, 1989.
4. Powers G.S. and Meister T. Urea Synthesis and Ammonia Metabolism. 251-263. Edited by I. Arias, H. Popper, D. Schachter and D.A. Shafritz. In: "The liver: Biology and Pathobiology". Raven Press, New York, 1982.
5. Brown G.W. and Cohen P.P. Activities of Urea-Cycle Enzymes in Various Higher and Lower Vertebrates. Biochem. J. 1960, 75, 82-91.
6. Brusdeilins M., Kühner R. and Schumacher K. Purification, Affinity to Anti-human Arginase Immunoglobulin-Sepharose 4B and Subunit Molecular Weights of Mammalian Arginases. Biochim. et Biophys. Acta. 1985, 840, 79-90.
7. Ozan S., Gürsu M.F. ve Gülen Ş. Kısmen Artırılmış *Moniezia expansa* Arginininin Bazı Özellikleri. Doğa-Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. 1993, 17, 245-250.

8. Ozan S., Gürsu M.F., Sarıeyyüpoğlu M. ve Gülen Ş. Su Kirlenmesinin Elazığ Keban Baraj Gölündeki *Capoeta Trutta* Türü Balıkların Değişik Organlarındaki Arginaz Aktivitelerine Etkisi. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. 1993, 18,7-10.
9. Teresita R.P. and Anders A. Arginase Activity in Different Fish Species and Tissues. Comp. Biol. Chem. Physiol., 1983, Vol: 76 B, 1, pp: 15-16.
10. Çelikkale.M.S. İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği, Cilt 1, K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu, Trabzon. 419, 1988.
11. Geyer J.W. and Dabich D. Rapid Method for Determination of Arginase Activity in Tissue Homogenates. *Analy. Biochem.* 1971, 39, 412-417.
12. Gornall A.G., Bardawill C.J. and Dawid M.M. Determination of Serum Proteins by means of the Biuret Reaction. *J. Biol. Chem.*, 1949, 177, 751.
13. Baldwin, E. *Dynamic Aspects of Biochemistry*. Fifth Ed., Cambridge Univ. Press, p:263-279, 1967.