



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2017; 31 (2): 93 - 96  
<http://www.fusabil.org>

### Trikofitozisli Sığırlarda Haptoglobin ve Serum Amyloid A Düzeyleri ve *Nigella Sativa*'nın Antiinflamatuvar Etkisi

Engin BALIKCI<sup>1</sup>  
Abdullah GAZIOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Bingöl Üniversitesi,  
Teknik Bilimler Meslek  
Yüksekokulu,  
Veterinerlik Bölümü,  
Bingöl, TÜRKİYE

Bu çalışma, trikofitozisli sığırlarda akut faz yanıtının hangi değerlerde olabileceğini serum amyloid A (SAA) ve haptoglobin (Hp) düzeylerine bakılarak tesbit edilmesi ve ayrıca *Nigella sativa*'nın (NS) Hp ve SAA düzeylerini nasıl etkileyebileceğini ortaya çıkarmak amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmada klinik ve mikrobiyolojik olarak teşhis edilen trikofitozisli 16 sığır (7-12 aylık, Holştayn ve Montofon ırkı) ve sağlıklı 8 sığır (7-12 aylık, Holştayn ve Montofon ırkı) kullanılmıştır. Denemede kullanılan hayvanlar, sağlıklı hayvanlardan oluşan kontrol grubu (Grup 1, n=8), trikofitozisli sığırların NS ile tedavi edildiği grup (Grup 2, n=8, iki hafta boyunca günde bir kez topikal olarak NS uygulanmış) ve trikofitozisli tedavi edilmeyen grup (Grup 3, n=8) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Serum Hp ve SAA konsantrasyonları ticari olarak bulunan ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü. Tedaviden önce, trikofitozisli sığırların (Grup 2 ve 3) SAA (36.05±0.28 mg/L ve 38.19±0.35 mg/L) ve Hp (0.354±0.018 g/L ve 0.328±0.023 g/L) düzeyleri kontrol grubundaki sığırların (Grup 1) SAA (9.43±0.11 mg/L) ve Hp (0.084±0.007 g/L) düzeylerine göre, istatistiksel olarak arttığı (P<0.05) tespit edilmiştir. Trikofitozisli sığırlara NS uygulamasından 48 saat sonra alınan kan serum örneklerinde Grup 2'de SAA (18,34±0.52 mg/L) ve Hp (0.103±0.016 g/L) düzeyleri Grup 3'e göre SAA (32,26±0.52 mg/L) ve Hp (0.284±0.024 g/L) düzeylerinin istatistiksel olarak azaldığı (P<0.05) saptanmıştır. Sonuç olarak; Hp ve SAA'nın yükselmiş değerlerinin trikofitosize karşı inflamatuvar cevabın sonucu olduğu aynı zamanda, NS grubunda, Hp ve SAA düzeylerinin azalmasının NS'nin antiinflamatuvar etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Trikofitozis, sığır, serum amyloid A, haptoglobin, *Nigella sativa*

#### Concentrations of Haptoglobin and Serum Amyloid A in Cattle with Trichophytosis and Anti-Inflammatory Effect of *Nigella sativa*

The aim of this study was to measure the acute phase response of cattle with trichophytosis by determining the serum concentrations of serum amyloid A (SAA) and haptoglobin (Hp) and also to investigate how *Nigella sativa* could affect Hp and SAA levels. In this study, 16 cattle (7-12 month old, Holstein and Montofon breed) with clinically and microbiologically diagnosed trichophytosis and 8 healthy cattle (7-12 months old, Holstein and Mondofon breeds) were used. The animals in the study were divided into 3 groups; control group (Group 1, n= 8), NS treated group (Group 2, n= 8, were administered topically once daily for two weeks) and untreated group with trichophytosis (Group 3, n= 8). Concentrations of serum Hp and SAA were measured using commercially available ELISA kits. Before the treatment, SAA and Hp levels were significantly higher (P<0.05) in cattle with trichophytosis when compared to controls respectively; 36.05±0.28 mg/L, 38.19±0.35 mg/L and 9.43±0.11 mg/L; 0.354±0.018 g/L, 0.328±0.023 g/L and 0.084±0.007 g/L. Forty eight hours after NS application to the cattle with trichophytosis, SAA and Hp levels were significantly lower (P<0.05) in Group 2 than Group 3 respectively, 18.34±0.52 mg/L, 32.26±0.52 mg/L and 0.103±0.016 g/L, 0.284±0.024 g/L. It was concluded that the elevated values of Hp and SAA were a result of the inflammatory response to dermatophytosis. Also in NS group, it is thought that the decreases of Hp and SAA levels may be caused by the antiinflammatory effect of NS.

**Key Words:** Trichophytosis, cattle, serum amyloid A, haptoglobin, *Nigella sativa*

Geliş Tarihi : 06.03.2017  
Kabul Tarihi : 24.05.2017

#### Yazışma Adresi Correspondence

Engin BALIKCI  
Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,  
Elazığ - TÜRKİYE

ebalikci@firat.edu.tr

#### Giriş

Trikofitozis, özellikle baş ve boyun bölgesi olmak üzere tüm vücutta epitel tabakasının keratinize olarak kalınlaşması ve kılların enfekte olarak dökülmesiyle karakterize olan bulaşıcı ve zoonoz bir dermatomikozistir (1). Hastalığın sığırlardaki en önemli etkenleri *Trichophyton verrucosum* ve *Trichophyton mentagrophytes* olarak bildirilmiştir (1). Dünyanın her yerinde yaygın olarak görülen dermatofitozisin gelişmesinde en önemli faktörler bireysel farklılık, ırk predispozisyonu ve çevresel koşullardır. İnfeksiyonun bulaşmasında fungal sporların alınması, hayvanlar arası temas ve enfekte materyaller önemlidir. Genç, zayıf ve immun sistemi baskılanmış hayvanlar hastalığa daha fazla yatkınlık göstermektedirler (2).

Akut faz cevap; doku hasarını sınırlandırmada, travma, enfeksiyon veya yangıyı takiben iyileştirmeyi stimule etmede rol oynayan doğal bir savunma mekanizmadır. Bu akut faz cevap ile yangısal bölgede granulosit ve mononükleer hücrelerin aktive edilmesiyle birlikte, TNF-alfa ve interlokin-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınır ve

proinflamatuar sitokinler akut faz proteinler (AFP) olarak bilinen glikoproteinlerin karaciğerden üretimini stimüle eder. Bu proteinlerin serum veya plazma konsantrasyonları travma, çeşitli enfeksiyon ve yangısal durumlarda doku hasarını takiben arttığı belirtilmiştir (3, 4). Haptoglobin (Hp) ve Serum amiloid-A (SAA) sığırlarda önemli AFP'lerdir (5). Trikofitozisli sığırların AFP'lerindeki değişimler sınırlı sayıdaki çalışmada değerlendirilmiştir. Bu çalışmalardan birinde, trikofitozisli mandalarda sağlıklı mandalara göre serum Hp ve SAA düzeylerinde önemli artışlar olduğu bildirilmiştir (6).

Halk arasında çörekotu olarak bilinen *Nigella sativa* (NS) bitkisinin ekstreleri ve yağı birçok farmakolojik etki göstermektedir. Bu etkiler içerisinde antidiyabetik, antioksidan, hepatoprotektif, gastroprotektif, antitümoral, antibakteriyel, antifungal ve antiinflamatuar gibi birçok etki sayılabilir (7-9). Bu etki çeşitliliği NS'nin içeriğinde bulunan aktif bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşenlerden bazıları; timokinon, ditimokinon, timol, karvakrol (uçucu yağlar), nigellicine, nigellimine-N-oksit ve nigellidine'dir (alkaloidler) (7).

Bu çalışma, trikofitozisli sığırlarda akut faz yanıtının hangi değerlerde olabileceğini Hp ve SAA düzeylerine bakılarak tesbit edilmesi ve ayrıca NS'nin Hp ve SAA düzeylerini nasıl etkileyebileceğinin ortaya konulması amacıyla yapılmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada klinik ve mikrobiyolojik olarak teşhis edilen trikofitozisli 16 sığır (7-12 aylık, Holştayn ve Montofon ırkı) ve sağlıklı 8 sığır (7-12 aylık, Holştayn ve Montofon ırkı) kullanılmıştır. Çalışmaya alınan trikofitozisli sığırlara çalışma öncesi herhangi bir tedavi ve aşı uygulaması yapılmamıştır. Bu çalışmada, NS yağı (Origo Gıda Kimya Tarımsal Sanayi ve Ticaret A.Ş. Şti. - Gaziantep) kullanılmıştır. Sağlıklı hayvanlardan oluşan kontrol grubu (Grup 1, n= 8), trikofitozisli sığırlar NS ile tedavi edilen grup (Grup 2, n= 8) NS, iki hafta boyunca günde bir kez topikal olarak uygulanmış ve trikofitozisli herhangi bir tedavi edilmeyen grup (Grup 3, n= 8) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Trikofitozisli sığırların klinik muayenesinde özellikle baş ve boyun olmak üzere vücudun çeşitli bölgelerinde gri-beyaz renkte, asbest görünümünde çapları 3 cm veya daha büyük kabartılar tarzında lezyonların bulunduğu ve lezyonların bulunduğu bölgelerde kıl dökülmesi ve kepekleme olduğu gözlenmiştir. Sağlıklı sığırlarda herhangi bir deri lezyonu veya hastalık semptomu bulunmamıştır. Deri lezyonlarından toplanan deri ve saç örnekleri Saboraud Dextrose Agar'da %0.5 Kloramfenikol (Oxoid CM0041) ile kültürelendikten sonra, yedi gün boyunca 20 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda, koloniler bir halka ve lam üzerine alınmış ve malahit yeşili ile boyanmıştır. Işık mikroskop altında muayene ettikten sonra hifa yapılarına ve koloni morfolojisine göre sınıflandırılmıştır (10). Tüm hayvanların rutin klinik muayenesi yapıldıktan sonra sığırların vena jugularis'inden antikoagülsüz tüplere kan alınmıştır.

İkinci kan örnekleri tedavi sonrası 48. saatte toplanmıştır. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra serumları ayrılmıştır. Serumlar analiz yapılmaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Serum SAA (Tridelta Development LTD, İrlanda), Hp (Life Diagnostics Inc., West Chester, PA) konsantrasyonları ELISA yöntemiyle, üretici firmanın talimatları doğrultusunda ölçülmüştür.

İstatistiksel analizlerde SPSS Ms Windows Release 21.0 programı kullanılmıştır. Veriler ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir. Grup ortalamaları arasındaki farklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak tahmin edilmiş ve çoklu karşılaştırmalar Duncan testi, tedavi öncesi ve sonrası gruplar arası değerlendirmelerde paired t-testi kullanılmıştır. Sonuçlar P<0.05'de istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## Bulgular

Trikofitozisli buzağuların kıl ve deri örneklerinde *Trichophyton verrucosum* izole edilmiştir. Tedaviden önce, trikofitozisli sığırların (Grup 2 ve 3) SAA (36.05±0.28 mg/L ve 38.19±0.35 mg/L) ve Hp (0.354±0.018 g/L ve 0.328±0.023 g/L) düzeyleri kontrol grubundaki sığırların (Grup 1) SAA (9.43±0.11 mg/L) ve Hp (0.084±0.007 g/L) düzeylerine göre, istatistiksel olarak artığı (P<0.05) tespit edilmiştir (Tablo 1). Trikofitozisli sığırlara NS uygulaması yapıldıktan sonraki 48 saat sonra alınan kan serum örneklerinde Grup 2'de SAA (18.34±0.52 mg/L) ve Hp (0.103±0.016 g/L) düzeyleri Grup 3'e göre SAA (32.26±0.52 mg/L) ve Hp (0.284±0.024 g/L) düzeylerinin istatistiksel olarak azaldığı (P<0.05) saptanmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1.** Klinik olarak sağlıklı (Grup 1), trikofitozisli *Nigella sativa* kullanılan (Grup 2) ve trikofitozisli *Nigella sativa* kullanılmayan (Grup 3) sığırlarda haptoglobin ve serum amiloid-A ortalamaları

Parametre		Grup 1	Grup 2	Grup 3	P1
Haptoglobin (g/L)	TÖ	0.084±0.007 <sup>A</sup>	0.354±0.018 <sup>Ba</sup>	0.328±0.023 <sup>B</sup>	*
	TS	0.086±0.009 <sup>A</sup>	0.103±0.016 <sup>Ab</sup>	0.284±0.024 <sup>B</sup>	*
	P2	-	*	-	
Serum amiloid-A (mg/L)	TÖ	9.43 ± 0.11 <sup>A</sup>	36.05±0.28 <sup>Ba</sup>	38.19±0.35 <sup>B</sup>	*
	TS	10.54 ± 0.15 <sup>A</sup>	13.34 ±0.52 <sup>Ab</sup>	32.26 ±0.52 <sup>B</sup>	*
	P2	-	*	-	

TÖ: Tedavi öncesi, TS: Tedavi sonrası

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>: Aynı sütunlarda farklı üst simgeler içeren ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05)

<sup>A</sup>, <sup>B</sup>: Aynı satırda farklı üst simgeler içeren ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05)

## Tartışma

Sığırlardaki trikofitozisin en önemli etkenleri *Trichophyton verrucosum* ve *Trichophyton mentagrophytes* olarak bildirilmiştir (1). Bu çalışmada da trikofitozisli sığırların lezyonlarından alınan örneklerde *Trichophyton verrucosum* teşhis edilmiştir. Bu sonuç ülkemizde yapılan trikofitozisli sığırlarda yapılan çalışmalarla uyum içerisinde (6, 8, 11).

AFP'ler doku hasarının nonspesifik belirtici olup, sığırlar için en duyarlı olanları Hp ve SAA olduğu bildirilmiştir (5). Bu çalışmada da akut faz proteinlerini değerlendirirken Hp ve SAA değerlerine bakılmıştır. Birçok türde çalışılan önemli bir AFP olan Hp ve SAA; mastitis, pnömoni, enteritis, peritonitis, endokarditis, travmatik retiküloperitonitis, subakut ruminal asidozis, viral veya bakteriyel solunum sistemi enfeksiyonu gibi doğal ve deneysel birçok hastalıkta konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (3, 4, 12). Haptoglobin, sağlıklı sığırların serumunda bulunmamakta veya çok az düzeyde (0.1 g/L) bulunmaktadır (4). Yapılan çalışmalarda serum haptoglobin konsantrasyonunun 0.2-0.4 g/L arası olması hafif, 1-2 g/L arası ise şiddetli enfeksiyon olarak tanımlanmıştır (13). Sağlıklı sığırlarda serum SAA düzeyleri ortalama 14 mg/L olarak bildirilmiştir (14). Sığırlarda akut faz yanıtı sırasında SAA 2-5 kez artar (12). Trikofitozisli sığırların AFP'lerindeki değişimler sınırlı sayıdaki çalışmada değerlendirilmiştir. Bu çalışmalardan birinde, trikofitozisli mandalarda sağlıklı mandalara göre serum Hp ve SAA düzeylerinde önemli artışlar olduğu bildirilmiştir (6). Bu çalışmada da sağlıklı sığırların bulunduğu kontrol grubuna göre trikofitozisli sığırlarda (grup 2 ve 3) Hp ve SAA değerleri istatistiksel olarak arttığı (P<0.05) tespit edilmiştir. Fakat bu değerler hafif şiddette enfeksiyonu ifade eden değerler içerisinde yer almıştır.

Çörek otu tohumu (*Nigella sativa*) ve timokinonun eter ekstresinin antifungal aktivitesinin araştırılmasından elde edilen bulgular deri mantar enfeksiyonlarının tedavisinde halk ilacı olarak çörek otunun kullanımını desteklemiş ve anti-dermatofit ilaçlar için bir kaynak oluşturmuştur (8, 15). Dermatofitozlu sığırlarda NS ve NS+enilkonazol tedavisi yapılan bir çalışmada NS'nin, anti-dermatofit ve antioksidan etkilere sahip olabileceği ve NS+enilkonazol tedavisinin anti-dermatofit etkisinin diğer tedavi gruplarına göre daha iyi olduğu ve antifungal etkileri nedeniyle NS'nin, dermatofitoz tedavisinde adjuvan veya alternatif bir ajan olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (8). NS'nin anti-dermatofit ve antioksidan

etkileri yanında anti-inflamatuar etkisinin ortaya konulması amacıyla yapılan bu çalışmada, inflamasyonun bir belirtisi olarak ortaya çıkan akut faz proteinlerinden Hp ve SAA değerleri araştırılmıştır. NS'nin anti-inflamatuar etkisini ortaya koymak için, yapılan bir çalışmada endometritisli ineklere ceftiofur hydrochloride ve *Nigella sativa* intrauterin uygulamaları yapılmış, tedavi sonrası Hp ve SAA değerlerinin tedavi öncesine göre istatistiksel olarak azaldığı ve ceftiofur hydrochloride ve *Nigella sativa* ile tedavi edilen gruplarda Hp ve SAA düzeylerinin tedavi edilmeyen kontrol grubuna göre istatistiksel azalmalar saptandığı bildirilmiştir (9). Bu çalışmada da NS kullanılan trikofitozisli sığırların Hp ve SAA düzeylerinin tedavi edilmeyen trikofitozisli sığırlara göre istatistiksel olarak (P<0.05) azaldığı saptanmıştır.

İnflamasyon, siklooksijenaz ve lipooksijenaz olmak üzere başlıca iki enzim tarafından düzenlenmektedir. Bunlardan siklooksijenaz yolunda prostaglandinler sentezlenirken, lipooksijenaz yolunda ise lökotrienler sentezlenmektedir ki bunlar alerji ve inflamasyonda görev almaktadırlar. NS'nin en önemli bileşenlerinden olan timokinon, kalsiyum iyonofor ile uyarılan rat peritoneal lökositlerindeki araziidonik asit metabolizmasının hem siklooksijenaz hem de lipooksijenaz yollarını inhibe etmektedir. Bu yüzden siklooksijenaz ve lipooksijenaz'ın inhibisyonu, timokinonun anti-inflamatuar etkilerini düzenleyen anahtar bir faktör olduğu savunulmuştur (16). LPS ile indüklenen rat bazofil hücrelerinde timokinonun TNF $\alpha$  mRNA ekspresyonunu ve protein üretimini önemli ölçüde inhibe ettiği ve NF- $\kappa$ B'nin nükleer transaktivasyonunu modüle ederek pro-inflamatuar yanıtları azalttığı bildirilmiştir (17). Başka bir çalışmada, pankreas duktal adenokarsinoma hücrelerinde timokinonun doz ve zamana bağlı olarak COX-2, interlökin (IL)-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  sentezini azalttığı ve NF- $\kappa$ B'nin inhibisyonuna paralel olarak anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (18). Bu çalışmada da NS'nin en önemli bileşenlerinden olan timokinonun anti-inflamatuar etkisi nedeniyle NS kullanılan trikofitozisli sığırlarda Hp ve SAA düzeylerinin azalmasının yukardaki mekanizmalarla gerçekleştiği savunulabilir.

Sonuç olarak; yapılan bu çalışmada trikofitozisli sığırlarda akut faz yanıtının olduğu, bunun sonucu olarak da Hp ve SAA düzeylerinin arttığı, NS kullanılan grupta ise Hp ve SAA düzeylerinin belirgin olarak azaldığının tesbit edilmesi, NS'nin anti-inflamatuar etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

## Kaynaklar

1. Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC. Infectious diseases of livestock with special reference to South Africa. Vol 2. Oxford University Press, Cape Town 1994: 1521-1533.
2. Gudding R, Lund A. Immunoprophylaxis of bovine dermatophytosis. Can Vet J 1995; 36: 302-306.
3. Gökçe Hİ, Bozokluhan K. Çiftlik hayvanlarında önemli akut faz proteinleri ve bunların veteriner hekimlik alanındaki kullanımı. Dicle Üniv Vet Fak Derg 2009; 1: 1-14
4. Eckersall PD, Conner JG. Bovine and canine acute phase proteins. Vet Res Com 1988; 12: 169-178.

5. Piccione G, Casella S, Giannetto C, Giudice E, Fazio F. Utility of acute phase proteins as biomarkers of transport stress in ewes. *Small Rum Res* 2012; 107: 167-171.
6. Kabu M, Sayın Z. Concentrations of serum amyloid A, haptoglobin, tumour necrosis factor and interleukin-1 and -6 in Anatolian buffaloes naturally infected with dermatophytosis *Vet Med-Czech* 2016; 61: 133-135.
7. Burtis M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res* 2000; 14: 323-328.
8. Balıkçı E. Antidermatophyte and antioxidant activities of *Nigella sativa* alone and in combination with enilconazole in treatment of dermatophytosis in cattle. *Vet Med-Czech* 2016; 61: 539-545.
9. Yıldız A, Balıkçı E. Antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activity of *Nigella sativa* in clinically endometritic cows *JAAR* 2016; 44: 431-435.
10. Koneman EW, Roberts GD. *Practical Laboratory Mycology*. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. 1985.
11. Şahal M, İmren HY, Borkü MK, Yardımcı H. Türkiye'de sığırlarda Trichophytie infeksiyonuna karşı ilk avirulent aşı uygulamaları. *A Ü Vet Fak Derg* 1988; 35: 567-587.
12. Alsemgeest SP, Kalsbeek HC, Wensing T, et al. Concentrations of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *Vet Quart* 1994; 16: 21-23.
13. Skinner JG, Brown RAL, Roberts L. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet Rec* 1991; 128: 147-149.
14. Lomborg SR, Nielsen LR, Heegaard PMH, Jacobsen S. Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Vet Res Comm* 2008; 32: 575-582.
15. Aljabre SHM, Randhawa MA, Akhtar N, et al. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. *J Ethnopharmacol* 2005; 101: 116-119.
16. Mansour M, Tornhamre S. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Med Chem* 2004; 19: 431-436.
17. El Gazzar MA, El Mezayen R, Nicolls MR, Dreskin SC. Thymoquinone attenuates proinflammatory responses in lipopolysaccharide-activated mast cells by modulating NF-kappaB nuclear transactivation. *Biochimica et Biophysica Acta* 2007; 177: 556-564.
18. Chehl N, Chipitsyna G, Gong Q, Yeo CJ, Arafat HA. Anti-inflammatory effects of the *Nigella sativa* seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells. *HPB (Oxford)* 2009; 1: 373-381.