



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2017; 31 (2): 97 - 100
<http://www.fusabil.org>

Akut Ruminal Laktik Asidozislı Koyunlarda Akut Faz Protein Yanıtı

Ömer KIZIL¹
Abdullah GAZIOĞLU²
Engin BALIKCI¹

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Bingöl Üniversitesi,
Teknik Bilimler Meslek
Yüksekokulu,
Veterinerlik Bölümü,
Bingöl, TÜRKİYE

Bu çalışma akut laktik asidozislı koyunlarda pozitif akut faz proteinlerindeki değişimi belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada 10 adet rumen asidozislı ve 10 adet sağlıklı koyundan oluşan toplam 20 adet koyun kullanılmıştır. Çalışmadaki tüm koyunların v. jugularis'lerinden kan örneği alınmış ve kısa sürede analizleri yapılmıştır. Serum amiloid A (SAA), Haptogloblin (Hp) ve C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz proteinlerinin düzeyleri ELISA ile uygun ticari kitleler kullanılarak belirlenmiştir. SAA ve Hp düzeyleri bakımından akut laktik asidozislı grupla kontroller arasında önemli farklılıklar ($P<0.01$) saptanmasına rağmen, CRP düzeyleri bakımından önemli farklılık ($P<0.05$) belirlenmemiştir. Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulguların daha sonraki benzer çalışmalar için kaynak oluşturacağı ve tedavinin izlenmesi ile prognoz belirleme noktasında yeni çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Akut faz proteinleri, koyun, rumen asidozisi

Acute Phase Protein Response in the Sheep with Acute Ruminal Lactic Acidosis

This study was conducted to determine the change in the positive acute phase proteins in sheep with acute ruminal lactic acidosis. The study was performed on 20 sheep consisting of 10 sheep with ruminal acidosis and 10 healthy controls. Blood samples were taken from the jugular vein of the animals and analyzed as soon as possible. The levels of acute phase proteins such as serum amyloid A (SAA), haptoglobulin (Hp) and C-reactive protein (CRP) were determined by ELISA using appropriate commercial test kits. Although the significant differences ($P<0.01$) were determined in SAA and Hp levels between acute lactic acidosis group and healthy control, the significant changes ($P<0.05$) wasn't determined in the CRP level. In conclusion, it is thought that the findings obtained from this study will be a resource for similar studies and that it will be beneficial to follow up the treatment and perform new studies at the prognostic point.

Key Words: Acute phase proteins, sheep, ruminal acidosis

Giriş

Ruminal fermantasyon bozuklukları arasında en dikkat çekici olanı akut ruminal laktik asidozis olup, özellikle arpa ve buğday gibi kolay kolay sindirilebilir karbonhidrat bakımından zengin yemlerin aniden fazla miktarda tüketilmesi sonucu gelişir (1, 2). Hastalığın şiddeti ve saptanan klinik bulgular değişken olup, tüketilen yemin çeşidi ve miktarı yanında önceden bu tür yemlere olan adaptasyon sürecine de bağlıdır (3). Hastalığın ortaya çıkışında iki önemli aşama vardır. Bunlardan ilkinde etiyolojide belirtilen yemlerin aniden tüketilmesi sonucu ruminal mikroflorada asido rezistans bakterilerin çoğalması ve aşırı laktik asit üretimi, ikincisinde ise biriken asitlerin dolaşıma geçerek sistemik asidoza neden olması söz konusudur. Rumende laktik asit düzeylerinin artması ruminal ortamda ozmotik basıncı artırarak, özellikle ekstrasellüler sıvıların rumen ortamına akışına neden olur. Bu durum ruminal dilatasyon ve şiddetli dehidrasyonla sonuçlanır (2, 4).

Koyunlarda asidozis, klinik olarak durgunluk, depresyon, iştahsızlık, hafif dehidrasyon, ruminal stazis ve hafif sulu aralıklı ishal ile kendini gösterir. Abdomen hafif şişkin görünüşte ve rumen hamur kıvamındadır. Bununla beraber perakut şiddetli vakalarda dehidrasyonun belirtisi olarak enoftalmus gözlenmiştir. İshal gözlenmemesine rağmen körlük, salivasyon, diş gıcırıtması, taşikardi ve taşipne gözlenebilir. İlaveten dolaşım şoku, böbrek yetmezliği, halsizlik ve ölüm durumlarıyla da karşılaşılabilir (2, 5, 6).

Enfeksiyonlar, yangılar, travma ve tümörler akut faz reaksiyonunu uyararak karaciğer tarafından çeşitli akut faz proteinlerinin üretimine ve kan dolaşımına salınımına neden olurlar (7). Bununla beraber akut faz proteinleri karaciğer dışında testisler, yağ doku, ovaryumlar, akciğerler, meme dokusu ve sindirim kanalından da sentezlenebilirler (8). Akut faz yanıtı doku hasarını sınırlandırmada, travma, enfeksiyon veya yangıyı takiben iyileşmeyi uyarmada rol oynayan doğal bir savunma mekanizmasıdır. Klinik olarak ateş ve iştahsızlık ile kendini gösterir (9).

Geliş Tarihi : 09.03.2017
Kabul Tarihi : 24.05.2017

Yazışma Adresi Correspondence

Ömer KIZIL
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim
Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

omerkizil@yahoo.com

Pozitif akut faz proteinlerinin akut faz reaksiyonu boyunca kandaki düzeyi artar. SAA, Hp ve CRP başlıca pozitif akut faz proteinleri arasındadır (10). Bu proteinlerin bir kısmı tür spesifik olup serum konsantrasyonları ve bu nedenle de diagnostik önemleri hayvan türlerine göre değişmektedir (11, 12).

Bu çalışmada, akut ruminal laktik asidozisli koyunlarda pozitif akut faz proteinlerindeki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırmanın materyalini, rumen içeriği bulgularına bakılarak rumen asidozisi teşhisi konulan (rumen pH'sı ≤ 4) (rumen asidozlu grup) ve yine aynı muayeneler sonucu sağlıklı olduğuna karar verilen (rumen pH'sı ≥ 7) (kontrol grubu) 10'ar adet, 1-2 yaşındaki Akkaraman ırkı koyundan oluşan toplam 20 adet koyun oluşturmuştur.

Çalışmaya alınan tüm koyunlar, muayenelerinin yaklaşık 10 saat öncesinde fazla miktarda arpa tükettikleri bilgisi yanında rumen sıvısı pH değerleri < 4 olduğundan akut rumen asidozlu vakalar olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmadaki tüm koyunların *v. jugularis*'lerinden 10'ar mL EDTA'lı tüplere kan örneği alınarak, 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiş ve serumları çıkarılarak en kısa sürede analizleri yapılmıştır.

Akut faz proteinlerinden Serum Amiloid A (SAA) düzeyleri Fine Test Marka Bovine SAA (serum amyloid A protein) ELISA kiti (Katalog No: EB0015, China), Haptoglobulin düzeyleri Bovine HP (Haptoglobulin) ELISA kiti (Katalog No: EB0011, China), C-Reaktif Protein düzeyleri Bovine CRP (C-Reaktif Protein) ELISA kiti (Katalog No: EB0009, China) kullanılarak tekniğine uygun şekilde ölçülmüştür. ELISA işlemlerinde BIOTEK ELX 50 (USA) marka yıkama cihazı ile Spectra Max Plus 384 Microplate Reader (USA) okuma cihazı kullanılmıştır.

Çalışmada elde edilen değerlere normallik testi uygulanmış ve değerler normal dağılım gösterdikleri için de istatistiksel analizlerde SPSS Ms Windows Release 20.0 programında bağımsız t-testi uygulanmıştır.

Bulgular

Çalışmada kullanılan koyunlarda rumen asidozisinin teşhisi rumen içeriği bulgularına bakılarak koyulmuştur. Rumen asidozisli gruptan alınan rumen içeriği boza görünüşünde, ekşimiş kokuda, ve pH'sı ≤ 4 'ten düşüktü. Bunun yanı sıra bu gruptaki koyunlarda depresyon, dehidrasyon, diş gıcırdatma, kalp ve solunum frekansında artış gibi bulgulara da rastlanmıştır. Çalışmaya alınan rumen asidozisli ve sağlıklı koyunlarda saptanan akut faz protein değerleri ile istatistiksel önem dereceleri Tablo 1'de topluca sunulmuştur.

Tablo 1 incelendiğinde SAA ve Hp düzeyleri bakımından akut laktik asidozisli koyunlarla kontroller arasında önemli farklılıkların olduğu ($P < 0.01$), ancak

CRP düzeyleri bakımından farklılık olmadığı anlaşılmaktadır.

Tablo 1. Rumen asidozisli ve sağlıklı koyunlarda saptanan akut faz protein değerleri ile istatistiksel önem dereceleri (n: 10)

Parametreler	Rumen Asidozisi Grubu (Ort±St)	Kontrol Grubu (Ort±St)	P
SAA (mg/L)	11.68±5.8	2.34±0.73	**
Hp (mg/dL)	0.41±0.16	0.06±0.04	**
CRP (mg/dL)	1.32±0.67	0.69±0.31	-

-: $P > 0.05$, **: $P < 0.01$

Tartışma

Çalışma sonuçları incelendiğinde, kontrol grubundaki hayvanlarda saptanan değerlere bakıldığında SAA (13), Hp (14) ve CRP (15) düzeylerinin daha önceden belirtilen referans değerlere yakın olduğu anlaşılmıştır. Ruminantlarda SAA ve Hp en önemli pozitif akut faz proteinleri olarak bildirilmiştir. Sığır ve koyunlarda doku hasarı, enfeksiyon ve yangıyı takiben Hp düzeylerinde belirgin artışlar oluşur (16-18). Akut faz yanıtta SAA ve CRP arasında bir kıyaslama yapıldığında, SAA'daki artışın CRP'den fazla olduğu, ayrıca SAA'nın fizyolojik düzeylerinin CRP'den daha yüksek olması nedeniyle de hafif düzeydeki artışları bile saptamanın mümkün olduğu ifade edilmektedir (19).

Akut faz yanıtı esnasında serumdaki akut faz proteinlerinin düzeyi önemli derecede artarken, sağlıklı olan hayvanlarda bu değerler dikkati çekecek derecede değildir (20, 21). Akut faz yanıtının tipi ve şiddeti türler arasında değişebilir. Akut yanıt esnasında düzeyleri patojenik faktörlere maruz kaldıktan sonraki ilk birkaç saatlik sürede önemli derecede artar (22, 23). Genellikle bu düzeyler 24-48 saat içerisinde pik yapar. Şayet uyaran devam etmezse ve yangı sonlanırsa düzeyler 4-7 gün içerisinde azalmaya başlar (14, 24).

Düşük rumen pH ortamında gram negatif bakterilerin ölmeleri ve lize olmaları sonucunda rumende serbest endotoksin düzeyinin arttığı bazı çalışmaların sonuçlarında ifade edilmektedir (25, 26). Asidik rumen ortamı, osmotik basınçtaki değişimler ve ruminal endotoksinler (LPS) rumen epitelinin hasarlara karşı duyarlı hale getirirler (27, 28). Bu hasarlar sonucunda da rumen ortamındaki endotoksinler kan dolaşımına geçerler (28). Ruminal endotoksinler çok sayıda metabolik hasarın etiolojisinde rol oynamaktadır (29, 30). Kan dolaşımında LPS olması çok çeşitli proinflatuar sitokinlerin, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi yanında konakçının yangıya karşı metabolik yanıtını etkileyen biyoaktif lipidlerin üretilmesine neden olur (31). Pek çok pozitif akut faz proteininin karaciğerden sentezi ve kana salınımı proinflatuar sitokinlerin uyarımı ile başlatılır (32). Haptoglobulin ve SAA düzeylerindeki artışların subakut ruminal asidozisin (SARA) kontrolünde faydalı birer parametre oldukları önceden ifade edilmiştir (33). Mevcut çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, akut

rumen asidozisinde haptoglobulin ve serum amiloid A düzeylerindeki artışların yukarıda bahsedilen mekanizmalarla ilişkili olarak akut faz yanıtın gelişmesini uyarimasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Küçük ruminantlarda akut faz proteinleri sığırlardaki kadar detaylı incelenmemiş olmasına rağmen akut faz yanıtının benzer olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda küçük ruminantlarda akut faz yanıtın belirlenmesinin klinik önemine rağmen, koyun ve keçi pratiğindeki kullanımları hakkında bilgi eksikliği olduğu ifade edilmektedir. Serum amiloid A ve Hb'nin küçük ruminantlardaki başlıca akut faz proteinleri olduğu ve yangı durumlarında düzeylerinde kat ve kat artışların olabileceği ifade edilmiştir (34-36). Akut laktik asidozisli koyunlarda yürütülen bu çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde ise hastalıkta ilk 24 saat içerisinde SAA düzeylerinde kontrollere nazaran yaklaşık 5 kat, Hp düzeylerinde ise 7 kat artış saptanmıştır. C-reaktif protein düzeylerindeki artışlar ise önemsiz kalmıştır.

Son yıllarda koyunların çeşitli hastalıklarında akut faz yanıtının belirlendiği çalışmalara rastlanmaktadır. Eckersall ve ark. (37), deneysel kazeöz lenfadenitiste akut faz proteinlerinin hastalığın takibindeki rolünü belirlemek amacıyla bir çalışma planlamışlar ve bu hastalıkta serumda Hp ve SAA düzeylerindeki artışları belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada Chalme ve ark. (38) koyunlarda E.coli nedenli endotoksemi durumunda akut faz yanıtındaki hızlı artışları belirlemişlerdir. El-Deeb (39) gebelik toksemili koyunlarda Hp ve SAA'daki

artışları belirlemişlerdir. Gebelik toksemisi olan koyunlarda yapılan başka bir çalışmada ise akut faz protein yanıtını değerlendirilmiş ve sadece Hp düzeylerinde önemli artışlar saptarken diğer protein düzeylerinde değişim saptanamamıştır (40). Hashemnia ve ark. (41) ise deneysel koksidiyozis oluşturdukları keçilerde inokulasyondan sonraki 7 günde serumda Hp ve SAA'daki artışları belirlemişlerdir.

Akut faz proteinlerinin düzeylerinin belirlenmesindeki zorluklara rağmen evcil hayvan hekimliğinde hastalıkların teşhis ve prognozlarının belirlenmesinde kullanılabilirler. Özellikle tedaviye alınan yanıtın izlenmesinde güçlü birer parametredirler (42). Yapılan araştırmalarda koyunlarda akut ruminal asidozis durumunda akut faz yanıtın belirlendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sadece bir çalışmada keçilerdeki subakut ruminal asidoz durumunda akut faz yanıtının belirlendiği bilgisine ulaşılmıştır (43). Bu çalışmada serum Hp düzeylerinde orta derecede artış saptanmasına rağmen, SAA düzeylerinde değişim saptanmamıştır. Sunmuş olduğumuz mevcut çalışmada ise akut laktik asidozisli koyunların serumlarında SAA ve Hp düzeylerinde önemli, CRP düzeylerinde ise önemsiz artışlar saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulguların daha sonraki benzer çalışmalar için kaynak oluşturacağını, ayrıca tedavinin izlenmesi ve prognoz belirleme noktasında yeni çalışmaların yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

- Braun U, Tihs R, Schefer U. Ruminal lactic acidosis in sheep and goats. *Vet Rec* 1992; 130: 343-349.
- Beauchemin KA, Yang WZ, Rode LM. Effects of barley grain processing on the site and extent of digestion of beef feedlot finishing diets. *J Anim Sci* 2001; 79: 1925-1936.
- Gentile A, Sconza S, Lorenz I. D-lactic acidosis in calves as a consequence of experimentally induced ruminal acidosis. *J Vet Med Series A* 2004; 51: 64-70.
- Owens FN, Secrist DS, Hill WJ, Gill DR. Acidosis in cattle: A review. *J Anim Sci* 1998; 76: 275-286.
- Nikolov Y. Biochemical alterations in rumen liquor, blood, cerebrospinal fluid and urine in experimental acute ruminal lactic acidosis in sheep. *Indian Vet J* 2003; 80: 36-39.
- Constable PD. Grain overload in ruminants. In: Khan C (Editor). *The Merck Veterinary Manual*, 10 th edition. Merck & C Inc, Whitehouse, USA, 2010.
- Kujala M, Orro T, Soveri T. Serum acute phase proteins as a marker of inflammation in dairy cattle with hoof diseases. *Vet Rec* 2010; 166: 240-241.
- Ceciliani F, Ceron JJ, Eckersall PD, Sauerwein H. Acute phase proteins in ruminants. *J Proteom* 2012; 75: 4207-4231.
- McGrotty YL, Knottenbelt RIK, Reid AWJ, Eckersall PD. Haptoglobin in a canine hospital population. *Vet Rec* 2003; 152: 562-564.
- Cray C, Zaias J, Altman NH. Acute Phase response in animals: A review. *Comp Med* 2009; 59: 517-526.
- Eckersall PD, Conner JG. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun* 1988; 12: 169-178.
- Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Vet J* 2004; 168: 28-40.
- Eckersall P, Lawson F, Bence L, et al. Acute phase protein response in an experimental model of ovine caseous lymphadenitis. *BMC Vet Res* 2007; 3: 1-6.
- Jain S, Gautam V, Naseem S. Acute-phase proteins: A diagnostic tool. *J Pharmacy Bioallied Sci* 2011; 3: 118-127.
- Ulutas P, Özpınar A. Effect of Mannheimia (Pasteurella) haemolytica infection on acute-phase proteins and some mineral levels in colostrum–breast milkfed or colostrum–breast milk-deprived sheep. *Vet Res Commun* 2006; 30: 485-495.
- Pfeffer A, Rogers KM, O'Keeffe L, Osborn PJ. Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. *Res Vet Sci* 1993; 55: 300-306.
- Skinner JG, Roberts L. Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. *Vet Rec* 1994; 134: 33-36.

18. Horadogada NU, Knox KMG, Gibbs HA, et al. Acute phase proteins in cattle discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet Rec* 1999; 144: 437-441.
19. Orro T, Jacobsen S, LePage JP, et al. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *Vet J* 2008; 176: 182-187.
20. Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res* 2004; 35: 163-187.
21. Tothova S, Nagy O, Kovac G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: A review. *Vet Med* 2014; 59: 163-180.
22. Gruys E, Toussant MJM, Niewold TA, et al. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci* 2005; 6: 1045-1056.
23. Ceciliani F, Giordano A, Spagnolo V. The systemic reaction during inflammation: The acute-phase proteins. *Prot Pept Lett* 2002; 9: 211-223.
24. Heegaard PM, Godson D, Toussaint M, et al. The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Vet Immunol Immunopathol* 2000; 77: 9-15.
25. Nagaraja TG, Bartley EE, Fina LR, Antony HD. Relationship of rumen gram-negative bacteria and free endotoxin to lactic acidosis in cattle. *J Anim Sci* 1978; 47: 1329-1336.
26. Andersen PH, Bergelin B, Christensen KA. Effect of feeding regimen on concentration of free endotoxin in ruminal fluid of cattle. *J Anim Sci* 1994; 72: 487-491.
27. Enemark JM, Jorgensen RJ, Enemark P. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: A review. *Vet Zootec* 2002; 20: 16-29.
28. Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003; 50: 406-414.
29. Andersen PH. Bovine endotoxemia: Some aspects of relevance to production diseases. *Acta Vet Scand.* 2003; 98: 141-155.
30. Ametaj BN, Bradford BJ, Bobe G, et al. Strong relationship between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. *Can J Anim Sci* 2005; 85: 165-175.
31. Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunol Today* 1994; 15: 74-80.
32. Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives, *Vet Clin Pathol* 2005; 34: 85-99.
33. Enemark JM. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *Vet J* 2008; 176: 32-43.
34. Cannizzo C, Giancesella M, Guidice E, et al. Serum acute phase proteins in cows with SARA (Subacute Ruminal Acidosis) suspect. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2012; 64: 15-22.
35. Gonzalez FHD, Tecles F, Martinez-Subiela S. Acute phase protein response in goats. *J Vet Diag Invest* 2008; 20: 580-584.
36. Lepherd M, Canfield P, Hunt G, Bosward K. Haematological, biochemical and selected acute phase protein reference intervals for weaned female Merino lambs. *Aust Vet J* 2009; 87: 5-11.
37. Eckersall PD, Lawson FP, Bence L. Acute phase protein response in an experimental model of ovine caseous lymphadenitis. *BMC Vet Res* 2007; 3: 35-40.
38. Chalmeh A, Badiei K, Poujafar M, Nazifi S. Acute phase response in experimentally *Escherichia coli* serotype O55:B5 induced endotoxemia and its comparative treatment with dexamethasone and flunixin in Iranian fat-tailed sheep. *Vet Arhiv* 2013; 83: 301-312.
39. El-Deeb WM. Novel biomarkers for pregnancy toxemia in ewes: Acute phase proteins and pro-inflammatory cytokines. *Scientific Rep* 2012; 1: 243-246.
40. Gonzalez FHD, Hernandez F, Madrid J, et al. Acute phase proteins in experimentally induced pregnancy toxemia in goats. *J Vet Diag Invest* 2011; 23: 57-62.
41. Hashemnia M, Khodakaram-Tafti A, Razavi SM, Nazifi S. Changing patterns of acute phase proteins and inflammatory mediators in experimental caprine coccidiosis. *Korean J Parasitol* 2011; 49: 213-219.
42. Tothova C, Nagy O, Kovac G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: A review. *Vet Med* 2014; 59: 163-180.
43. Gonzalez FHD, Ruiperez FH, Sanchez JM. Haptoglobin and serum amyloid A in subacute ruminal acidosis in goats. *Rev Med Vet Zootec* 2010; 57: 159-167.