



Bulaşıcı Ektimalı Koyunlarda Haptoglobin, Serum Amiloid A ve Seruloplazmin Düzeylerinin Araştırılması

Oğuz MERHAN^{1, a}
Ekin Emre ERKILIÇ^{2, b}
Kadir BOZUKLUHAN^{3, c}
Metin ÖĞÜN^{4, d}
Ali Haydar KIRMIZIGÜL^{2, e}

¹ Kafkas Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Kars, TÜRKİYE

² Kafkas Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Kars, TÜRKİYE

³ Kafkas Üniversitesi,
Kars Meslek Yüksekokulu,
Kars, TÜRKİYE

⁴ Kafkas Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Kars, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-3399-0667

^b ORCID: 0000-0003-2461-5598

^c ORCID: 0000-0003-4929-5156

^d ORCID: 0000-0002-2599-8589

^e ORCID: 0000-0002-6660-2149

Geliş Tarihi : 26.02.2021
Kabul Tarihi : 05.04.2021

Yazışma Adresi Correspondence

Oğuz MERHAN
Kafkas Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Kars – TÜRKİYE

oguzmerhan@hotmail.com

Bu çalışmada, bulaşıcı ektimalı koyunlarda haptoglobin, serum amiloid A (SAA) ve seruloplazmin düzeyinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 10 adet sağlıklı ve 20 adet bulaşıcı ektimalı koyun kullanıldı. Kan örnekleri *Vena jugularis*'ten antikoagülsüz tüplere alındı. Haptoglobin, SAA ve seruloplazmin düzeyi kolorimetrik olarak tayin edildi. Ektima ile enfekte koyunların yapılan klinik muayenesinde dudak bölgesi, comissura labium ve mukokutan bölgelerde kabuklanma, ateş, yeme güçlüğü, iştahsızlık, zayıflama saptandı. Biyokimyasal olarak bulaşıcı ektima ile enfekte grup ile sağlıklı koyunlar karşılaştırıldığında haptoglobin (P<0.01), SAA (P<0.01) ve seruloplazmin (P<0.05) konsantrasyonunun arttığı saptandı. Sonuç olarak, AFP düzeyi ile klinik semptomlar arasında ilişki olduğundan dolayı bulaşıcı ektima ile enfekte koyunlarda da haptoglobin, SAA ve seruloplazminin yangı belirteci olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Akut faz proteinler, bulaşıcı ektima, koyun

Investigation of Levels of Haptoglobin, Serum Amyloid A, Ceruloplasmin in Sheep with Contagious Ecthyma

In this study, it was aimed to determine haptoglobin, serum amyloid A (SAA), and ceruloplasmin levels in sheep with contagious ecthyma. Twenty sheep with contagious ecthyma and 10 healthy sheep were used in this study. Blood samples obtained from Jugular veins of animals were collected into plain tubes. Haptoglobin, SAA and ceruloplasmin levels were measured colorimetrically. When sheep with contagious ecthyma were compared with the animals in the control group, haptoglobin (P<0.01), SAA (P<0.01) and ceruloplasmin (P<0.05) levels were increased. In conclusion, haptoglobin, SAA, and ceruloplasmin can be used as inflammatory markers in sheep infected with contagious ecthyma, since there is a relationship between AFP level and clinical symptoms.

Key Words: Acute phase proteins, contagious ecthyma, sheep

Giriş

Kuzu ve oğlaklarda burun ucu, dudaklar ve ayaklarda ve yetişkinlerde memelerde kabuklu papüller ile karakterize kontagiyöz viral bir hastalıktır. Etken poxviridae familyasından epiteliyotropik bir virüs olan parapoxvirüstür. Zoonoz olması nedeniyle veteriner hekimler, hasta bakıcılar, çobanlar, kasaplar gibi meslekler risk grubunda yer almaktadır (1-3). 3 ile 6 aylık genç hayvanlarda nadiren de yetişkinlerde görülen bulaşıcı ektima, her mevsim görülmekle beraber çoğunlukla anız tarlası gibi kuru sert otların travmatik etkiye neden olduğu kuru mera döneminde daha sık oluşmaktadır. Virüs, hasta hayvanlarla direkt (temas yoluyla) veya indirekt (bulaşık ahır, bakıcılar ve diğer araç gereçlerle) olarak bulaşabilir. Dudak bölgesi, comissura labium ve mukokutan bölgelerde başlangıçta kızamık papüller, vezikül, püstül ve kabuklanma, ateş, yeme güçlüğü, iştahsızlık, zayıflama, topallık gibi semptomlar gözlenir (2, 4, 5).

Homeostaziste bozulmaya neden olan doku hasarı, yangı, enfeksiyona karşı organizmanın gösterdiği bir reaksiyon olan akut faz yanıt (AFY), hepatositler ve periferel dokularda üretilen akut faz proteinleri (AFP) olarak bilinen belirli proteinlerin üretimine ve salınımına neden olmaktadır. AFP'lerin üretimi lokal doku hasarına yanıt olarak inflamatuvar bölgeden salınan proinflamatuvar sitokinler tarafından kontrol edilir (6). Serum konsantrasyonu yangısal uyarımın başlangıcından 24 ile 48 saat sonra en üst seviyeye ulaşır ve enfeksiyonun iyileşmesiyle birlikte azalır. AFP'lerin bazılarının kan düzeyleri artarken bazılarının ise azalmaktadır. Ruminantlarda haptoglobin ve serum amiloid A (SAA) çok önemliyken seruloplazmin orta derecede önemli bir AFP'dir (7). Bu AFP'lerin dolaşımdaki konsantrasyonları genellikle bozukluğun şiddeti ve doku hasarının büyüklüğü ile ilgilidir. Bu nedenle, ruminantlarda serum haptoglobin, SAA ve seruloplazmin konsantrasyonlarının ölçümü, tanısal ve prognozun yanısıra AFY'nin değerlendirilmesinde kullanılabılır (7, 8).

Bu çalışmada, amacı bulaşıcı ektima tanısı konan koyunlarda haptoglobin, SAA ve seruloplazmin düzeyinin diagnostik öneminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) Başkanlığının 2018-66 kodlu etik kurul onayı ile yapılmıştır.

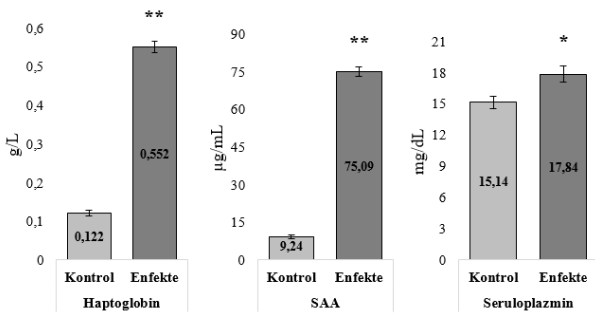
Hayvan materyali olarak 10 adet (6 dişi, 4 erkek) sağlıklı ve 20 adet (17 dişi, 3 erkek) bulaşıcı ektima ile enfekte 1-2 yaşlı Tuj ırkı koyun kullanıldı. Hayvanların genel klinik muayenesi yapılarak, klinik bulgulara göre bulaşıcı ektima teşhisi konuldu. Kan örnekleri *Vena jugularis*'ten antikoagulanız tüplere alındı. Kan örneklerinden elde edilen serumlar analiz edilinceye kadar -20 °C'de saklandı.

Serum haptogloblin konsantrasyonu Skinner ve ark. (8)'nin tanımladığı hemogloblin bağlama kapasitesinin belirlenmesi ile seruloplazmin, Colombo ve Richerich (9)'in tanımladığı p-fenilendiamin oksidaz aktivitesine dayanan kolorimetrik yöntemle, SAA ise ticari test kiti (Tridelta phase range, İrlanda) ile prosedürüne uygun olarak belirlendi.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS Windows 20.0 paket program kullanılarak değerlendirildi. Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılım gösteren grupların karşılaştırılmasında Student's t-testi kullanıldı. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde P<0.05 anlamlı kabul edilmiştir. Parametrik verilerin analiz sonuçlarının görselleştirilmesinde kullanılan grafikte ise ortalama ve standart hata değerleri kullanılarak hazırlanmıştır (10).

Bulgular

Ektima ile enfekte koyunların klinik muayenesinde dudak bölgesi, comissura labium ve mukokutan bölgelerde kabuklanma, ateş, yeme güçlüğü, iştahsızlık, zayıflama saptandı. Bulaşıcı ektima ile enfekte grup ile sağlıklı koyunlar karşılaştırıldığında serum haptogloblin (P<0.01), SAA (P<0.01) ve seruloplazmin (P<0.05) konsantrasyonunun arttığı saptandı (şekil 1).



şekil 1. Klinik olarak sağlıklı ve bulaşıcı ektimalı koyunlarda haptogloblin, SAA ve seruloplazmin düzeyleri (*: P<0.05, **: P<0.01)

Tartışma

Yapılan klinik muayene sonucu kaynaklardaki (2, 4, 11) bildirimlerle uyumlu olarak ektima ile enfekte hayvanlarda dudak bölgesi, comissura labium ve

mukokutan bölgelerde kabuklanma, ateş, yeme güçlüğü, iştahsızlık ve zayıflama belirlendi.

Yangı, doku hasarı ve enfeksiyon sonucunda karaciğerde pozitif AFP'lerin serum düzeyi artış gösterirken, negatif AFP'lerin azaldığı bildirilmektedir. Haptogloblinin serbest hemogloblin ile kararlı kompleksler oluşturması ve bu yolla demir kaybını önleyerek bakteriyostatik etki oluşturmasının yanı sıra lipid metabolizmasının düzenlenmesinde ve immünomodülatör olarak immün sistemin uyarılması gibi birçok fonksiyonu bulunmaktadır (12). Pozitif bir AFP olan haptogloblinin bakteriyel (13, 14), viral (15, 16) ve paraziter (17-19) hastalıklarda arttığı bildirilmiştir. Ektima ile enfekte koyunlarda yapılan bir çalışmada (20) haptogloblin ve fibrinojen oranının istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği rapor edilmiştir. SAA'nın yangısal olayların şiddet ve yaygınlığının belirlenmesinde, prognozda ve uygulanan tedavinin başarısının değerlendirilmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir (8). Kolesterolün hepatositlere taşınması, nötrofillerin oksidatif yıkımlanmasını engellemesi, monositlerden kalsiyum salınımının uyarılması gibi fonksiyonları bulunan SAA'nın sığırlarda serum düzeyi düşük olmakla birlikte yangısal durumlarda artış göstermektedir (12, 21). Ayrıca SAA'nın bakteriyel (14, 22, 23), viral (15, 24) ve paraziter enfeksiyonlarda (18, 19, 25), operasyonlardan sonra (26) arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada da ruminantlarda major AFP olan haptogloblin ve SAA konsantrasyonunun arttığı belirlenmiş olup bu durumun oluşan doku harabiyeti ile ilişkili olabileceği düşünölmektedir.

Bir α-2 globulin olan seruloplazmin bakırın taşınması, toksik demirin toksik olmayan demire oksitlenmesi ve antioksidan etki gibi fonksiyonlara sahiptir. Bakır antioksidan sisteme aracılık eden çeşitli enzim düzeyleri üzerine etki ederek immün fonksiyonun artmasını sağlar. Seruloplazmin doku onarımında rol alan lizil oksidaz ve bakır-çinko süperoksit dismutaz enzimlerine bakır taşınmasına aracılık etmektedir ve antioksidan sistemde rol almaktadır. Ayrıca hücreleri oksidatif zararlara karşı korumaktadır. şayet serum seruloplazmin düzeyi düşerse fagositoz ve antimikrobiyal aktivite de düşmektedir. Bu nedenle yangısal durumlarda bu enzime ihtiyaç artmaktadır (27). Yapılan çalışmalarda bakteriyel (13, 14, 22), viral (15, 16, 28), paraziter (25, 29-31), omfalit (32), koyunlarda güç doğum (33), peripartuent dönem (34) ve ineklerde progesteron-salan vajına içi araç (PRID) uygulamasında (35) konsantrasyonunun önemli düzeyde arttığı rapor edilmiştir. Çalışmada da bulaşıcı ektima ile enfekte koyunlarda seruloplazmin sentezinin arttığı belirlendi. Seruloplazmin konsantrasyonundaki yükselmenin nedeninin savunma sistemindeki hücrelerin antimikrobiyal ve fagositotik etkisindeki artıştan kaynaklandığı düşünölmektedir.

Sonuç olarak, AFP düzeyi ile klinik semptomlar arasında ilişki olduğundan dolayı bulaşıcı ektima ile enfekte koyunlarda da haptogloblin, SAA ve seruloplazminin yangı belirtici olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. İssi M, Gülaçtı İ, Bulut H, Gül Y. Severe persistent contagious ecthyma cases in twin goats. *J Anim Vet Adv* 2010; 9: 2447-2481.
2. Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. 11th Edition, Elsevier: China, 2017.
3. Teshale A, Alemayehu A. Contagious ecthyma and its public health significance. *Dairy and Vet Sci J* 2018; 7: 1-6.
4. Gökçe Hİ, Genç O, Gökçe G. Sero-prevalence of contagious ecthyma in lambs and humans in Kars, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 95-101.
5. Karki M, Venkatesan G, Kumar A, Kumar S, Bora DP. Contagious ecthyma of sheep and goats: A comprehensive review on epidemiology, immunity, diagnostics and control measures. *Vet Arhiv* 2019; 89, 393-423.
6. Iliev PT, Georgieva TM. Acute phase proteins in sheep and goats - function, reference ranges and assessment methods: an overview. *Bulg J Vet Med* 2018; 21: 1-16.
7. 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.
8. Skinner JG, Brown RA, Roberts L. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet Rec* 1991; 128: 147-149.
9. Colombo JP, Richterich R. Zur bestimmung des caeruloplasmin im plasma. *Schweiz Med Wochenschr* 1964; 94: 715-720.
10. SPSS. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, New York, 2011.
11. Kandemir FM, İssi M, Benzer F, et al. Plasma nitric oxide concentrations and erythrocyte arginase activities in lambs with contagious ecthyma. *Rev Med Vet* 2011; 162: 275-278.
12. Petersen HH, Nielsen JP, Heegard PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res* 2004; 35: 163-187.
13. Bozukluhan K, Merhan O, Büyük F, Çelebi Ö, Gökçe G. Brusellozisli sığırlarda bazı akut faz proteinlerin düzeyinin saptanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2016; 63: 13-16.
14. Merhan O, Bozukluhan K, Çelebi Ö, et al. Levels of acute phase protein and some biochemical parameter in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *Erciyes Univ Vet Fak Derg* 2017; 14: 101-105.
15. Merhan O, Bozukluhan K, Kızıltepe S, Gokce HI. Investigation of levels of haptoglobin, serum amyloid A, ceruloplasmin and albumin in cattle with foot-and-mouth disease. *Isr J Vet Med* 2017; 72: 14-17.
16. Bozukluhan K, Merhan O, Gökçe Hİ, et al. Determination of some acute phase proteins, biochemical parameters and oxidative stress in sheep with naturally infected sheeppox virus. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2018; 24: 437-441.
17. Bozukluhan K, Merhan O, Özcan A, Gökçe Hİ, Gökçe G. *Toxocara vitulorum* ile doğal enfekte buzağılarda serum haptogloblin düzeyi, oksidatif belirteçler ve bazı biyokimyasal parametrelerin düzeyinin belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2017; 64: 75-79.
18. Merhan O, Bozukluhan K, Gokce HI. Acute phase proteins and biochemical and oxidative stress parameters in *Hypoderma spp.* infested cattle. *J Hell Vet Med Soc* 2017; 68: 535-540.
19. Niine T, Peetsalu K, Tummeleht L, Kuks A, Orro T. Acute phase response in organic lambs associated with colostrum serum amyloid A, weight gain, and cryptosporidium and giardia infections. *Res Vet Sci* 2018; 121: 117-123.
20. Al Saad KM, Thweni HT, Abdali DA, Tarik AS. Clinical and diagnostic studies of contagious ecthyma (ORF) in sheep. *IOSR-JAVS* 2017; 10: 64-69.
21. Gökçe HI, Bozukluhan K. Çiftlik hayvanlarında önemli akut faz proteinleri ve bunların veteriner hekimlik alanındaki kullanımı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2009; 1: 1-14.
22. Kaya S, Merhan O, Kacar C, Colak A, Bozukluhan K. Determination of ceruloplasmin, some other acute phase proteins, and biochemical parameters in cows with endometritis. *Vet World* 2016; 9: 1056-1062.
23. Bozukluhan K, Merhan O, Ogun M, et al. Investigation of haptoglobin, serum amyloid A, and some biochemical parameters in calves with omphalitis. *Vet World* 2018; 11: 1055-1058.
24. İssi M, Gül Y, Başbuğ O, Ulutaş PA. Haptoglobin, serum amyloid A and ceruloplasmin concentrations in cattle with suspicion of coryza gangrenosa bovum. *Vet Arhiv* 2017; 87: 703-712.
25. Kırmızıgül AH, Erkiş EE, Merhan O, ve ark. *Babesia canis* ile enfekte köpeklerde serum amiloid-A, haptoglobin, seruloplazmin ve albumin seviyeleri. *Kocatepe Vet J* 2020; 13: 219-223.
26. Bozukluhan K, Gökçe HI. Retikuloeritonitis travmatika ve retikuloerikarditis travmatikalı sığırlarda bazı akut faz proteinlerin araştırılması. *Erciyes Univ Vet Fak Derg* 2009; 4: 107-113.
27. Cerone SI, Sansinanea AS, Streitenberger SA, Garcia MC, Auza NJ. Cytochrome C oxidase, Cu, Zn-superoxide dismutase, and ceruloplasmin activities in copper-deficient bovines. *Biol Trace Elem Res* 2000; 73: 269-278.
28. Merhan O, Bozukluhan K, Gökçe G, Yılmaz O. İshalli buzağılarda haptogloblin, seruloplazmin ve bazı biyokimyasal parametre düzeylerinin araştırılması. *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 2016; 30: 195-198.
29. Nisbet C, Çenesiz S, Açıcı M, Umur Ş. Kistik ekinokokozisli sığırlarda serum malondialdehit, seruloplazmin ve adozin deaminaz düzeylerinin belirlenmesi. *Erciyes Univ Vet Fak Derg* 2008; 5: 1-4.
30. Ulutaş PA, Voyvoda H, Ulutaş B, Aypak S. Miks enfeksiyonlu keçilerde haptogloblin, serum amiloid A ve seruloplazmin konsantrasyonları. *Türkiye Parazit Derg* 2008; 32: 229-233.
31. Bozukluhan K, Merhan O, Kızıltepe Ş, Harmankaya A, Gökçe G. Toksoplazmozisli koyunlarda oksidatif stres ve seruloplazmin düzeylerinin belirlenmesi. *Van Vet J* 2020; 31: 83-86.

32. Kurt B, Erkilic EE, Merhan O, et al. The determination of levels of acute-phase proteins, inducible nitric oxide synthase and endothelial nitric oxide synthase in calves with omphalophlebitis. *Fresenius Environ Bull* 2019; 28: 8601-8605.
33. Bayyit E, Merhan O. Normal ve güç doğum yapan ineklerde bazı akut faz proteinlerinin ve oksidatif stres düzeyinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2020; 15: 145-150.
34. Merhan O, Özcan A. Peripartum dönemdeki koyunlarda seruloplazmin, haptogloblin, fibrinojen, albümin ve transferrin düzeylerinin araştırılması. *Erciyes Univ Vet Fak Derg* 2010; 7: 13-20.
35. Kuru M, Merhan O, Kaya S, Oral H, Kükürt S. The effect of short term progesterone-releasing intravaginal device treatment on acute inflammation markers for Holstein heifers. *Revue Med Vet* 2015; 166: 336-340.