



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Şağ.Bil.Vet.Derg.  
2015; 29 (1): 45 - 48  
<http://www.fusabil.org>

Abdullah GAZİOĞLU<sup>1</sup>  
Mehmet GÜVENÇ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bingöl Üniversitesi,  
Teknik Bilimler Meslek  
Yüksekokulu,  
Bingöl, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

### Leptospirozisli Danalarda Oksidatif Stres ve Bazı Biyokimyasal Parametreler

Bu çalışma, leptospirozisli danalarda oksidatif stres ve bazı biyokimyasal parametrelerdeki değişimleri belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmanın materyalini 3-5 aylık 10 adet leptospirozis tanısı konan dana ile aynı yaşlarda 10 adet sağlıklı danadan oluşan toplam 20 adet dana oluşturmuştur. Tüm hayvanlarda malondialdehid (MDA), plazma katalaz (CAT) ve glutathiyonperoksidaz (GSH-Px), total protein, albumin, alkalin fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH), gama glutamiltransferaz (GGT), kan üre nitrojen (BUN), glikoz ve total bilirubin düzeyleri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, MDA düzeylerinin leptospirozisli grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ( $P<0.01$ ) daha yüksek, GSH-Px ve CAT düzeylerinin ise daha düşük ( $P<0.05$ ) olduğu saptanmıştır. Ayrıca ALP, AST, LDH, GGT, BUN, total bilirubin ve total protein düzeylerinin leptospirozisli hastalarda kontrollere nazaran yüksek olduğu, albumin ve glikoz düzeylerinin ise hasta grupta düşük olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, leptospirozisli danalarda hastalık esnasında oksidatif stresin geliştiği saptanmış ve bu hastalıkta karaciğer ve böbreğin etkilendiğine işaret eden biyokimyasal verilere ulaşılmıştır.

**Anhtar Kelimeler:** *Biyokimya, dana, leptospirozis, oksidatif stres.*

#### Oxidative Stress and Some Biochemical Parameters in Calves with Leptospirosis

The aim of this study was to determine the oxidative stress and changes of some biochemical parameters in calves with leptospirosis. In this study, 20 calves were used consisting of 10 healthy calves and 10 calves with leptospirosis. The malondialdehyde (MDA), plasma catalase (CAT), glutathiyon peroxidase (GSH-Px), total protein, albumin, alkaline phosphatase (ALP), aspartat amino transferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), gama glutamyl transferase (GGT), blood urea nitrogen (BUN), glucose and total bilirubin levels were determined in all calves. The MDA levels was higher in the infected calves compared to control, but GSH-Px ve CAT levels were lower. ALP, AST, LDH, GGT, BUN, total bilirubin and total protein levels was higher in sick calves compared to controls, but albumine and ve glucose levels was lower in the infected calves. In conclusion, the oxidative stress was determined during leptospirosis. Furthermore, the biochemical changes to evidence that liver and adrenal injury was determined during leptospirosis.

**Key Words:** *Biochemistry, calve, leptospirosis, oxidative stres.*

#### Giriş

Leptospirozis, çeşitli hayvan türlerinde septisemi, interstisyel nefritis, hemolitik anemi, abortus, mastitis, merkezi sinir sistemi bozuklukları, deri ve mukozalarda nekrozis ile seyreden ve zoonozolan bir hastalıktır. Hastalık genellikle portör hayvanların idrarları ile veya bulaşık mera, yem ve içme sularıyla oral ve deri yoluyla bulaşmaktadır. Bazı şiddetli hastalık vakalarında ilk 12 saat içinde ölüm gözlenebilir. Aynı zamanda mukozalarda solgunluk, ikterus ve hemoglobininurigibi klinik bulgularda saptanabilir (1-3). Semptomların belirgin olmaması nedeniyle hastalığın klinik tanısı güçtür (4-6). Kesin tanı kan, idrar, karaciğer, böbrek gibi organlardan etkenlerin izolasyonu ve idrarın karanlık saha mikroskopundaki muayenesinde etkenlerin görülmesiyle direkt ya da dolaşımdaki spesifik antikorların ortaya konulmasıyla indirekt olarak yapılabilir (2, 7). Buzağılarda akut şiddetli hastalık formu gözlenebilir ve semptom olarak yüksek ateş, hemolitik anemi, kan işeme, sarılık, akciğer konjesyonu ve arasında da meningitis ve ölüm vakaları gözlenebilir (8).

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren, reaktif ve kısa ömürlü olan atom veya moleküller (9-12) olup, normal metabolik süreçte belirli düzeylerde üretilirler ve bu maddeler düşük konsantrasyonlarda bazı fizyolojik işlemler için gereklidirler (13-15). Oksidatif stress durumu çoğu hastalıkta sekonder aktive edici bir faktör olarak etkilenebilir (16-18).

Bu çalışma, leptospirozis tanısı konan danalarda biyokimyasal bazı parametrelerdeki değişimleri belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Geliş Tarihi : 16.02.2015  
Kabul Tarihi : 23.02.2015

#### Yazışma Adresi Correspondence

Abdullah GAZİOĞLU  
Bingöl Üniversitesi,  
Teknik Bilimler Meslek  
Yüksekokulu,  
Bingöl - TÜRKİYE

[a-gazioglu@hotmail.com](mailto:a-gazioglu@hotmail.com)

## Gereç ve Yöntem

Araştırmanın materyalini Bingöl İli merkezde yer alan bir sığır işletmesinde kan işeme ve ikterus semptomu gösteren 3-5 aylık, erkek 10 adet montofon ırkı dana (leptospirozisli grup) ile aynı işletmeden bu tür semptomlar göstermeyen ve klinik olarak sağlıklı oldukları saptanan benzer yaş grubundaki 10 adet montofon ırkı dana (kontrol grubu) oluşturmuştur. Çalışmadaki tüm hayvanlar klinik olarak muayene edildikten sonra, tekniğine uygun olarak *V. jugularis*'lerinden 10'ar mL EDTA'lı ve antikoagülsüz tüplere kan örnekleri alınmış, 3000 rpm/5 dk santrifüj edilerek plazma ve serumları çıkarılmış ve analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Leptospirozis teşhisinde ticari test kitleri (PrioCHECK, L.hardjo–Ab indirekt ELISA kiti) kullanılmıştır. Bu testte mikroplatler etkene ait inaktive antigen ile kaplanmış, kan serumu örneklerinde bulunan *Leptospira hardjo* spesifik antikorları test pletindeki antigenlere bağlanmıştır. Daha sonra konjüge edilmiş anti-bovine monoklonal antikorlar, kromojen substrat ve stop solüsyon kullanılarak oluşan rengin optik dansitesi 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda ölçülmüştür. Testin değerlendirilmesinde ise kit prosedürüne uygun olarak hesaplanıp test edilen örneklerde *L. hardjo*'ya karşı oluşan spesifik antikorlar tespit edilmiştir. Lipid peroksidasyonun tayini amacıyla plazmalar alındıktan sonra geriye kalan eritrosit kısmı, 3 kez %0.9'luk NaCl solüsyonuyla yıkanmış, daha sonra 1 kısım eritrosit süspansiyonu 9 kısım distile su ile karıştırılarak %10'luk eritrosit hemolizati elde edilmiştir. Malondialdehid (MDA) analizi Placer ve ark. (19)'nın; plazma katalaz (CAT) tayini Goth (20) ve plazma glutathiyonperoksidaz (GSH-Px) tayini Lawrance ve Burk (21)'un kullandığı metoda göre tayin edilmiştir. Biyokimyasal analizlerden total protein, albümin, alkalin fosfat (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH), gama glutamiltransferaz (GGT), kan üre nitrojen (BUN), glikoz ve total bilirubin düzeyleri ise ticari test kitleri yardımıyla biyokimya otoanalizörü (Advia 2400 Chemistry system, Siemens, UK) kullanılarak belirlenmiştir.

İstatistiksel analizlerde, SPSS Ms Windows Release 21.0 programında gruplar arası değerlendirmelerde Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

## Bulgular

Çalışmada leptospirozis tespit edilen danalarda klinik olarak ateş, ikterus, kan işeme ve zayıflama semptomları tespit edilmiştir.

Leptospirozisli ve kontrol grubu danalarda saptanan çeşitli biyokimyasal parametreler ile gruplar arasındaki istatistiksel önemin dereceleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Bu tablo incelendiğinde, leptospirozisli danalarda lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu (P<0.01), GSH-Px (P<0.05) ve CAT (P<0.01) düzeylerinin ise kontrol grubundaki hayvanlara göre azaldığı dikkati çekmektedir.

Yine aynı tablo incelendiğinde total protein düzeyi leptospirozisli grupta kontrol grubuna göre yüksek iken albümin düzeylerinin düşük olduğu, ancak aralarında istatistiksel bir önem saptanmadığı görülmektedir (P>0.05). ALP, AST, LDH, GGT, BUN ve total bilirubin düzeylerinin leptospirozis grubundaki hayvanlarda kontrol grubundakilere nazaran yüksek olduğu Tablo 1'den anlaşılabilir. Bu parametrelerden GGT bakımından gruplar arasında bir istatistiksel farklılık saptanmamıştır (P>0.05). Gruplar arasında ALP bakımından P<0.01, AST, LDH ve BUN düzeyleri bakımından ise P<0.05 düzeyinde istatistiksel önem saptanmıştır. Glikoz düzeyleri leptospirozisli grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur (P<0.001).

**Tablo 1.** Leptospirozis ve kontrol grubu danalarda saptanan çeşitli biyokimyasal parametreler ile bulguların istatistiksel önem dereceleri

Parametreler	Leptospirozis Grubu (n=10)	Kontrol Grubu (n=10)	P
MDA (µmol/L)	7.61 ± 0.2	4.27 ± 0.1	**
GSH-Px (U/g protein)	2.49 ± 0.3	3.13 ± 0.4	*
CAT (kU/L)	47.3 ± 11.7	63.2 ± 13.4	**
Total protein (g/dL)	7.3 ± 0.4	7.2 ± 0.4	–
Albümin (g/dL)	2.9 ± 0.1	3.1 ± 0.1	–
ALP (U/L)	74.7 ± 11.4	52.1 ± 8.6	**
AST (U/L)	87.5 ± 13.1	72.7 ± 11.8	*
LDH (U/L)	457.7 ± 54.2	364.2 ± 47.5	*
GGT (U/L)	10.4 ± 2.6	9.5 ± 2.4	–
BUN (mg/dL)	16.2 ± 4.8	11.8 ± 3.4	*
Glikoz (mg/dL)	51.4 ± 12.3	84.9 ± 18.7	***
Total bilirubin (mg/dL)	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	**

–: P>0.05, \*: P<0.05, \*\*: P<0.01, \*\*\*: P<0.001

## Tartışma

Bu çalışmada doğal olarak enfekte olan ve leptospirozis tanısı konan danalarda bazı biyokimyasal parametreler ve oksidatif stres durumundaki değişimler belirlenmiştir.

Leptospirozisli buzağılarda özellikle de *L. pomona*'dan kaynaklanan olaylarda şiddetli hastalık tablosu gelişebilir. Bu tip vakalarda yüksek ateş, hemolitik anemi, hemoglobinüri, sarılık, akciğer konjesyonu, meningitis ve ara sırada da ölüm olayları gözlenebilir (8, 22). Çalışmada leptospirozisli danalarda klinik olarak saptanan yüksek ateş, hemoglobinüri ve ikterus semptomları genç sığırlar için literatürlerde bildirilen (2,3,8,22) klinik bulgular ile benzerlik göstermiştir.

Lipid peroksidasyonu, başlıca doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu ifade eden enzimatik olmayan bir zincir reaksiyonunu tanımlamada kullanılan bir

terimdir. Bu reaksiyon sonrasında başlıca lipid peroksitler ve diğer zararlı ara ürünler oluşmaktadır. Bu yan ürünler başlıca hücre membranının özelliklerini bozmaktadır ve en önemli yan ürünlerden biri de MDA'dır (23, 24). Özellikle eritrosit membranı çok zincirli doymamış yağ asitleri bakımından zengin olup, lipidperoksidasyona karşı oldukça duyarlıdır (25). Vücutta oksidatif stresin gelişip gelişmediğinin belirlenmesinde lipid peroksidasyonun belirlenmesi en yaygın kullanılan metoddur (26). Çalışmanın sonuçları incelendiğinde leptospirozisli danalarda kontrol grubuna nazaran saptanan yüksek MDA düzeyleri artan oksidatif stresin ve antioksidan enzimlerden GSH-Px ve CAT düzeylerinde kontrollere nazaran gözlenen azalmaların ise oksidatif strese yanıt olarak artan kullanımlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu açıdan bakıldığında gerek MDA düzeylerindeki artışlar ve gerekse de GSH-Px ve CAT düzeylerindeki azalmalar hastalık esnasında gelişen ve hücresel hasara neden olabilen oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edilebilirler.

Erdoğan ve ark. (27)'nin leptospirozisli sığırlarda oksidatif parametrelerdeki değişimleri araştırdıkları bir çalışmada, leptospirozisli sığırlardaki MDA düzeylerini kontrollere nazaran yüksek bulmuşlar ve bu durumu hastalık esnasında gelişen lipidperoksidasyonunun göstergesi olarak kabul etmişlerdir. Mevcut çalışmada MDA düzeyleri ile ilgili saptanan sonuçlar Erdoğan ve ark. (27) saptadığı sonuçlara benzerlik göstermektedir.

Yine aynı çalışmada (27), total protein oranlarını leptospirozisli sığırlarda yüksek bulurken, albümin düzeylerini düşük saptamışlardır. Mevcut çalışmada da, yukarıda ifade edilen çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde leptospirozisli danalarda total protein oranının kontrollere nazaran yüksek ancak albümin oranının düşük olarak saptanmıştır. Bu durumun nedeni olarak hem globülin düzeyindeki muhtemel artışlar hem de karaciğerdeki muhtemel hasar düşünülmektedir. ALP, AST, LDH ve GGT gibi enzimlerde saptanan yüksek değerler hastalığın neden olduğu hepatitisin göstergesi olarak kabul edilebilir. Ayrıca total bilirubin düzeylerindeki artışların hem hepatitisle hem de hastalık esnasında artan intravenöz hemolizle alakalı olduğu düşünülmektedir. Hastalık esnasında böbreklerde de değişik derecelerde yangı oluştuğundan, hasta grupta saptanan yüksek BUN değerleri hastalık esnasında böbreklerin etkilendiği olduğunu göstergesi olarak kabul edilebilir. Leptospirozis grubundaki danalarda saptanan düşük glikoz değerlerinin hastalığın seyri esnasında gözlenen iştahsızlıkla alakalı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, leptospirozis tanısı konan danalarda saptanan eritrosit MDA düzeylerindeki artışlar ile plazmalarındaki GSH-Px ve CAT düzeylerindeki azalmalar hastalık döneminde oksidatif stresin geliştiğinin önemli göstergeleridir. Ayrıca hastalıkta karaciğer ve böbreğin etkilendiğine dair biyokimyasal verilere ulaşılmıştır.

## Kaynaklar

1. Rocha T. Reviews of leptospirosis in farm animals in Portugal. Rev Sci Tech 1998; 17: 699-712.
2. Radostits DM, Gay CC, Blood DC, Hinchliff KW. Textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9th Edition, London, San Francisco, Sydney: Bailliere Tindall, 2000.
3. İmren HY, Şahal M. Veteriner İç Hastalıkları. Ankara: Medisan, 1991.
4. Arda M. Sarmal Biçimli Mikroorganizma Enfeksiyonları. Özel Mikrobiyoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1982.
5. Faine S. Guidelines for the control of Leptospirosis. Geneva: World Health Organization, 1982.
6. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 296-326.
7. Smith BP. Large Animal Internal Medicine. 4th Edition, St. Louis: Mosby, 2009.
8. Aiello SE, Mays A. The Merck Veterinary Manual. 8th Edition, Philadelphia, New Jersey: Whitehouse Station, 1998.
9. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
10. Bramley PM, Elmadfa I, Kafatos A, et al. Vitamin E. J Sci Food Agric 2000; 80: 913-938.
11. Burton GW, Joyce A, Ingold KU. Is Vitamin E only lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in Human blood plasma and erythrocyte membranes? Arch Biochem Biophys 1983; 221: 281-290.
12. Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 1993; 49: 481-493.
13. Ghosh J, Myers CE. Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers massive apoptosis in human prostate cancer cells. Proc Natl Acad Sci 1998; 95: 13182-13187.
14. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends Biochem Sci 1990; 15: 129-135.
15. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. FASEB J 1987; 1: 441-446.
16. Gutteridge JMC. Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. Free Radic Res Commun 1993; 19: 141-158.
17. Kızıl Ö, Özdemir H, Karahan M, Kızıl M. Oxidative stress and alterations of antioxidant status in goats naturally infected with Mycoplasma agalactia. Rev Med Vet 20; 158: 326-330.
18. Kızıl Ö, Akar Y, Saat N, Kızıl M, Yuksel M. The plasma lipid peroxidation intensity and chain-breaking antioxidant concentrations in the cows with clinic or subclinic mastitis. Rev Med Vet 2007; 158: 529-533.

19. Placer AZ, Linda LC, Johnson B. Estimation of product of lipid peroxidation (Malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
20. Goth L. A Simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 1991; 196: 143-152.
21. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952-958.
22. Lomar AV, Diament D, Torres JR. Leptospirosis in Latin America. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14: 23-29.
23. Castillo C, Hernandez J, Lopez-Alonso M, Miranda M, Benedito JL. Values of plasma lipid hydroperoxides and total antioxidant status in healthy dairy cows: Preliminary observations. *Arch Anim Breed* 2003; 46: 227-233.
24. Comborti M. Three models of free radical-induced cell injury. *Chem Biol Interact* 1989; 72: 1-56.
25. Devasena T, Lalitha S, Padma K. Lipid peroxidation, osmotic fragility and antioxidant status in children with acute post-streptococcal glomerulonephritis. *Clin Chim Acta* 2001; 308: 155-161.
26. Moore K, Roberts LC. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 1998; 28: 659-671.
27. Erdoğan HM, Karapehlivan M, Çitil M, et al. Serum sialic acid and oxidative stress parameters changes in cattle with leptospirosis. *Vet Res Commun* 2008; 32: 333-339.