

ŞAP AŞISI UYGULANAN BESİ SİĞIRLARINDA ANTIOKSİDAN VİTAMİNLERİN KLİNİK VE BAZI HEMATOLOJİK PARAMETRELER İLE ANTIOKSİDAN ENZİM VE LİPİT PEROKSİDASYON DÜZEYLERİNE ETKİLERİ¹

Ömer KIZIL

Yusuf GÜL

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Elazığ – TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 12.02.2004

The Effects of Antioxidants Vitamins on Clinical and Some Haematological Parameters, Antioxidant Enzyme and Lipid Peroxidation Levels of Beef Cattle Vaccinated with Foot and Mouth Disease Vaccine

Summary

The aim of this study to determine the effects of antioxidant vitamins on some clinical and haematological parameters and antioxidant enzyme levels of beef cattle pre and post vaccinated with foot and mouth disease vaccine.

In this study 48 healthy brown swiss beef cattle (approximately aged one year) were used. These animals were divided into four groups (A, B, C and D) each in including 12 animals; group A: only inactivated foot and mouth disease vaccine was applied, group B: inactivated foot and mouth disease vaccine and vitamin C were injected on day 0 and 3 of the experiment, group C: inactivated foot and mouth disease vaccine and vitamin AD₃E were injected on day 0 of the experiment and group D: inactivated foot and mouth disease vaccine and vitamin AD₃E and vitamin C were injected on day 0 of the experiment, in addition vitamin C was also injected on day 3.

All cattle were clinically examined and blood samples were obtained from a jugular vein of animals on day 0, 3, 14 and 21 of the experiment for the laboratory analysis.

The result of clinic (body temperature, pulsus rate, respiration rate and rumen motion) and haematologic examination (total leukocyte, hemoglobine, micro haematocrit, formula leukocyte) antioxidant enzyme (super oksid dismutase, catalase and glutathyon peroxidase) and lipid peroxidation (malondialdehyde) levels after application of the vaccine were determined.

Key Words: Beef cattle, antioxidant enzyme, foot and mouth disease vaccine

Özet

Bu çalışmada; şap aşısı uygulanan besi tosunlarında aşılama öncesi ve sonrasında klinik ve hematolojik parametreler ile antioksidan enzimler ve lipit peroksidasyon düzeylerine antioksidan vitaminlerin etkisini belirlemek amaçlanmıştır.

Araştırmada klinik olarak sağlıklı, montofon ırkı ve yaklaşık bir yaşında 48 baş besi tosunu kullanılmıştır. Bu hayvanlar 12'şerli dört gruba (A, B, C ve D) ayrılmıştır; A grubuna sadece şap aşısı yapılmış, B grubuna şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde vitamin C uygulanmış, C grubuna şap aşısı + aşılama sırasında vitamin AD₃E uygulanmış, D grubuna ise şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde vitamin C + aşılama sırasında vitamin AD₃E uygulanmıştır.

Araştırmada kullanılan tüm hayvanların sistemik klinik muayeneleri yapıldıktan sonra laboratuvar muayeneleri için aşılama öncesi (0. gün) ve sonrası 3., 14. ve 21. günlerde V. jugularislerinden dört kez kan örnekleri alınmıştır.

Tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik (vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansı, rumen hareketleri) ve hematolojik (total lökosit sayısı, mikrohematokrit değer, hemoglobin miktarı, formül lökosit) muayene bulguları, antioksidan enzimler (süper oksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) ve lipit peroksidasyon (malondialdehit) düzeyleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Besi sığırı, antioksidan enzim, şap aşısı

¹ Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen (FÜBAP-538) "Besli Sığırlarında Antioksidant Vitaminlerin İmmünite Üzerine Etkileri" başlıklı doktora tezinin bir bölümünden özetlenmiştir.

Giriş

Biyolojik sistemlerde endojen ve ekzojen kökenli stres faktörleri nedeniyle sürekli olarak serbest radikaller ve diğer oksijen kökenli türler üretildiğinden, hücre bu stres faktörlerine maruz kalmayı sınırlamak için güçlü ve kompleks enzimatik ve moleküler antioksidan savunma sistemi geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmalarını serbest radikal tutucuları (tokoferol, karoten, askorbik asit ve glutatyon) ve enzimler (süper oksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) oluşturmaktadır (9, 11, 16, 18, 21).

Bu çalışmada, şap aşısı uygulanan besi tosunlarında klinik ve hematolojik parametreler ile antioksidan enzim ve lipit peroksidasyon düzeylerine antioksidan vitaminlerin etkisini belirlemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmanın materyalini yaklaşık bir yaşında, klinikman sağlıklı, montofon ırkı, 48 baş besi tosunu oluşturmuştur. Araştırmada kullanılan hayvanlar her grupta 12 hayvan olmak üzere 4 gruba (A, B, C ve D) ayrılmıştır. A grubundaki sığırlara sadece şap aşısı, B grubundaki sığırlara şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde C vitamini, C grubundaki sığırlara şap aşısı + aşılama sırasında AD₃E vitamini, D grubundaki sığırlara ise şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde C vitamini + aşılama sırasında AD₃E vitamini uygulanmıştır.

Besi hayvanlarına Şap Enstitüsü'nün ürettiği trivalan şap aşısı (Tip A, O ve Asia 1) gerdan bölgesine sc uygulanmıştır. AD₃E vitamini uygulanan sığırlara Adevilin* 2ml/100 kg CA ve C vitamini uygulanan hayvanlara Vit Ce** 10ml/100 kg CA dozunda uygulanmıştır.

Araştırma, klinik ve laboratuvar muayeneleri olmak üzere iki safhada yürütülmüştür.

2.1. Klinik Muayeneler

Tüm hayvanların aşılama öncesi, aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerde olmak üzere toplam dört kez

klinik muayeneleri yapılmıştır. Yapılan klinik muayenelerde vücut sıcaklığı, kalp frekansı, solunum frekansı ve rumen hareketleri ile özellikle lenf

yumruları, görülebilen mukoza ve konjunktivalar, turnak araları kontrol edilmiştir (5, 17).

2.2. Laboratuvar Muayeneleri

2.2.1. Hematolojik Muayeneler

Hematolojik muayenelerden; formül lökosit, total lökosit sayımı (akyuvar sulandırma pipeti ile), hematokrit değeri (mikro yöntem ile) ve hemoglobin miktarı tayini (asit hematin yöntemi= Sahli yöntemi ile) yapılmıştır (27).

2.2.2. Antioksidan Vitamin Düzeyleri Tayini

Serum örneklerinde A vitamini ve β-karoten tayinleri Suziki ve Katoh'un bildirdikleri (22) UV-Spektrofotometrik metotla, C vitamini düzeyleri fosfotungustat metodu kullanılarak kolorimetrik olarak (8) ve E vitamini düzeyleri Martinek yöntemiyle (10) spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

2.2.3. Antioksidan Enzim Aktiviteleri Tayini

Eritrosit katalaz aktivitesi ölçümü Aebi metodu (1) ile, eritrosit hemolizat süper oksit dismutaz (SOD) aktivitesi Randox Firmasının enzimatik metoduna göre çalışan RANSOD (13) adlı ticari kiti ile, eritrosit glutathion peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi ölçümü Beutler metodu (4), plazma lipit peroksid (malondialdehit, MDA) düzeylerinin ölçümü ise Satoh (19) ve Yogi (26) tarafından modifiye edilen yöntemlere göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

İstatistiki hesaplamalar SPSS Ms Windows Release 10.0 bilgisayar programı kullanılarak, gruplar arası farklılığın istatistiksel önemliliği varyans analizi yöntemiyle Duncan testine göre ve grup içi günler arasındaki farklılıkların istatistiksel önemliliği ise t-testi (paired) kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular

Çalışmada kullanılan hayvanlara ait klinik ve hematolojik parametreler ile antioksidan vitamin, antioksidan enzim ve lipit peroksidasyon düzeylerinin aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 1, 3, 5 ve 7'de ve grup içi günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 2, 4, 6 ve 8'de gösterilmiştir.

*Adevilin: Her ml'de 500.000 IU vitamin A, 75.000 IU vitamin D₃ ve 50 mg vitamin E içeren 100 ml'lik ambalaj. Vilsan.

**Vit Ce: ml'de 200 mg vitamin C içeren 10 ml'lik ampul. Sanovel.

Tablo 1. Tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları ($\bar{x} \pm Sx$) ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemi

		A	B	C	D
		$\bar{x} \pm Sx$	$\bar{x} \pm Sx$	$\bar{x} \pm Sx$	$\bar{x} \pm Sx$
Vücut sıcaklığı (°C)	0	38.5 ± 0.4 ^A	38.6 ± 0.4 ^A	38.6 ± 0.4	38.5 ± 0.4
	3	38.9 ± 0.2 ^{ab}	38.9 ± 0.3 ^{ab}	38.7 ± 0.3 ^{ab}	38.6 ± 0.3 ^{b*}
	14	38.4 ± 0.3 ^A	38.5 ± 0.3 ^A	38.6 ± 0.3	38.5 ± 0.2
	21	38.3 ± 0.2 ^A	38.4 ± 0.2 ^A	38.6 ± 0.3	38.6 ± 0.2
Kalp frekansı (/dk)	0	77.0 ± 5.9 ^A	76.0 ± 5.1 ^A	77.0 ± 5.9 ^A	76.0 ± 4.5 ^A
	3	81.3 ± 4.6 ^B	80.6 ± 4.8 ^B	82.0 ± 5.3 ^B	80.3 ± 4.7 ^B
	14	78.6 ± 6.5 ^{AB}	77.0 ± 5.2 ^{AB}	77.0 ± 6.4 ^{AB}	78.0 ± 3.2 ^{AB}
	21	78.3 ± 4.7 ^{AB}	76.0 ± 4.5 ^A	80.0 ± 5.5 ^{AB}	78.0 ± 2.1 ^{AB}
Solunum frekansı (/dk)	0	25.0 ± 5.9 ^A	21.0 ± 3.9 ^A	22.3 ± 5.0 ^A	21.6 ± 4.7 ^A
	3	29.1 ± 3.7 ^B	25.0 ± 4.2 ^B	27.3 ± 4.8 ^B	25.3 ± 3.9 ^B
	14	24.6 ± 4.1 ^A	25.3 ± 4.3 ^{BC}	22.0 ± 4.0 ^A	24.3 ± 3.2 ^{AB}
	21	23.3 ± 4.5 ^A	22.3 ± 3.2 ^{ABC}	22.3 ± 4.7 ^A	23.6 ± 5.5 ^{AB}
Rumen hareketi (/5 dk)	0	9.4 ± 1.5 ^{AB}	8.9 ± 1.5	8.8 ± 1.9	9.1 ± 1.2 ^{AB}
	3	8.5 ± 1.2 ^B	8.7 ± 1.3	8.9 ± 1.1	8.7 ± 1.4 ^B
	14	9.5 ± 1.2 ^A	9.6 ± 1.4	9.3 ± 1.3	9.5 ± 1.2 ^{AB}
	21	9.9 ± 1.2 ^A	9.7 ± 1.4	9.8 ± 1.3	10.1 ± 1.0 ^A

a, b, c, d : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A, B, C, D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

* : $p < 0.005$

Tablo 2. Tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik muayene sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması.

		A				B				C				D			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
Vücut sıcaklığı (°C)	0	*	-	-		*	-	-		-	-	-		-	-	-	
	3		***	***			**	**			-	-			-	-	
	14																
	21																
Kalp frekansı (/dk)	0	*	-	-		*	-	-		*	-	-		**	-	-	
	3		-	-			-	*			-	-			-	-	
	14																
	21																
Solunum frekansı (/dk)	0	*	-	-		*	*	-		*	-	-		***	-	-	
	3		**	**			-	-			-	-			*	*	
	14																
	21																
Rumen hareketi (/5dk)	0	-	-	-		-	-	-		-	-	-		-	-	-	
	3		**	**			-	-			-	*			-	-	
	14																
	21																

: $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

Tablo 3. Tüm gruplardaki hayvanlara ait hematolojik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları (x + Sx) ile gruplar ve günler arası farkların istatistiksel önemi.

	Günler	A	B	C	D
		X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx
Total Lökosit (/mm ³)	0	8817 ± 1341 ^{AB}	8517 ± 1550 ^{AC}	8867 ± 1269 ^A	9167 ± 1367 ^A
	3	9000 ± 1157 ^A	8750 ± 805 ^A	8716 ± 1028 ^A	8283 ± 846 ^B
	14	8100 ± 641 ^B	7500 ± 575 ^{BC}	7867 ± 720 ^B	7917 ± 855 ^B
	21	8333 ± 935 ^{AB}	8217 ± 690 ^A	8217 ± 668 ^{AB}	8050 ± 704 ^B
M.hematokrit (%)	0	35.5 ± 2.6	35.0 ± 2.8	36.5 ± 2.3 ^A	35.7 ± 2.8
	3	35.8 ± 2.0	34.5 ± 1.8	35.9 ± 2.0 ^A	35.8 ± 2.3
	14	34.6 ± 1.6	35.0 ± 2.2	34.1 ± 1.4 ^B	34.4 ± 1.7
	21	35.1 ± 1.7	34.6 ± 2.4	33.9 ± 1.4 ^B	35.4 ± 2.7
Hemogloblin (gr)	0	9.8 ± 1.6 ^A	9.1 ± 1.2	9.6 ± 1.1 ^A	9.3 ± 0.6 ^A
	3	9.3 ± 1.1 ^{AB}	9.0 ± 0.7	9.1 ± 0.8 ^B	9.5 ± 0.9 ^A
	14	8.9 ± 0.6 ^B	8.8 ± 0.5	8.6 ± 0.6 ^C	9.1 ± 0.7 ^A
	21	9.2 ± 0.8 ^{aAB}	8.6 ± 0.6 ^b	8.7 ± 0.4 ^{bbC}	8.4 ± 0.6 ^{b*B}
Lenfosit (%)	0	48.6 ± 4.1 ^a	51.1 ± 3.3 ^{abA}	53.4 ± 3.8 ^b	50.2 ± 3.2 ^{a*}
	3	50.5 ± 2.9 ^{ac}	48.3 ± 3.3 ^{ab}	53.0 ± 3.8 ^{bc}	54.1 ± 5.0 ^{b**}
	14	51.0 ± 4.8	50.1 ± 2.9 ^{AB}	52.2 ± 2.9	52.0 ± 3.5
	21	51.6 ± 3.7	49.8 ± 3.4 ^{AB}	51.0 ± 3.1	53.2 ± 3.4
Nötrofil (%)	0	39.3 ± 3.2	38.9 ± 3.4 ^A	36.1 ± 4.2 ^{AB}	39.1 ± 3.2
	3	37.0 ± 3.5	39.9 ± 3.9 ^{AB}	38.3 ± 3.0 ^B	37.4 ± 3.6
	14	37.1 ± 5.9	42.5 ± 4.1 ^B	39.5 ± 4.3 ^{BC}	38.5 ± 4.4
	21	37.3 ± 6.4	39.9 ± 3.9 ^{AB}	40.3 ± 3.0 ^C	35.8 ± 5.9
Eozinofil (%)	0	7.6 ± 2.8	7.6 ± 3.0 ^A	6.8 ± 2.2	6.6 ± 1.4
	3	8.4 ± 1.7 ^a	7.8 ± 2.1 ^{abA}	6.5 ± 1.4 ^b	6.4 ± 2.0 ^{b*}
	14	7.0 ± 2.9 ^a	3.7 ± 2.2 ^{bb}	5.4 ± 2.6 ^{ab}	5.9 ± 3.2 ^{ab*}
	21	6.3 ± 3.1	6.1 ± 3.4 ^A	6.0 ± 2.0	6.7 ± 2.3
Monosit (%)	0	4.1 ± 1.2 ^a	2.1 ± 1.5 ^{ba}	3.3 ± 2.1 ^{abA}	3.6 ± 1.5 ^{a*}
	3	3.8 ± 1.4 ^a	3.8 ± 1.9 ^{aAB}	2.0 ± 0.7 ^{bb}	2.6 ± 1.7 ^{ab**}
	14	4.5 ± 2.2	3.3 ± 1.5 ^B	2.5 ± 1.6 ^{AB}	3.2 ± 1.6
	21	4.5 ± 2.2	3.9 ± 2.5 ^{AB}	2.5 ± 1.3 ^{AB}	3.9 ± 1.7
Bazofil (%)	0	0.1 ± 0.4	0.08 ± 0.3	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4
	3	0.1 ± 0.4	0.08 ± 0.3	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.4
	14	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.2 ± 0.4
	21	0.1 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.9 ± 0.3	0.2 ± 0.4

a, b, c, d : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A, B, C, D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

* : p<0.005 ** : p<0.01

Tablo 4. Tüm gruplardaki hayvanlara ait hematolojik muayene sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

	Günler	A				B				C				D			
		$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
T. Lökosit (/mm ³)	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*		
	3			*	-		**	-		*	-	-					
	14				-			**				-					
	21																
M. hematokrit (%)	0	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	**	-	-	-		
	3			-	-		-	-		*	*						
	14				-			-				-					
	21																
Hemoglobün (gr)	0	-	*	-	-	-	-	-	*	**	**	-	-	-	***		
	3			-	-		-	-		*	-				***		
	14				-			-				-			*		
	21																
Lenfosit (%)	0	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	3			-	-		-	-		-	-	-					
	14				-			-				-					
	21																
Nötrofil (%)	0	-	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-	-	-	**		
	3			-	-		-	-		-	-	-			*		
	14				-			-				-					
	21																
Eozinofil (%)	0	-	-	-	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	3			-	-		***	-	-	-	-	-					
	14				-			*				-					
	21																
Monosit (%)	0	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	*	-	-		
	3			-	-		-	-		-	-	-					
	14				-			-				-					
	21																
Bazofil (%)	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	3			-	-		-	-		-	-	-					
	14				-			-				-					
	21																

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Tablo 5. Tüm gruptaki hayvanlara ait A vitamini, β -karoten, C vitamini ve E vitamini değerlerinin aritmetik ortalamaları ($\bar{x} \pm Sx$) ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemi

		A	B	C	D
		$\bar{x} \pm Sx$	$\bar{x} \pm Sx$	$\bar{x} \pm Sx$	$\bar{x} \pm Sx$
A vitamini ($\mu\text{g/dl}$)	0	45.6 \pm 6.5 ^{aA}	47.3 \pm 11.0 ^{aA}	36.2 \pm 7.3 ^{bA}	46.3 \pm 15.0 ^{a*A}
	3	41.1 \pm 6.4 ^{aB}	43.9 \pm 11.7 ^{aB}	61.6 \pm 9.8 ^{bB}	65.1 \pm 17.1 ^{b***B}
	14	33.5 \pm 4.0 ^{aC}	41.7 \pm 8.7 ^{bB}	55.7 \pm 9.8 ^{cC}	50.5 \pm 14.4 ^{c***A}
	21	32.5 \pm 4.2 ^{aC}	35.7 \pm 7.9 ^{aC}	47.9 \pm 10.5 ^{bD}	45.3 \pm 9.8 ^{b***A}
β -karoten ($\mu\text{g/dl}$)	0	127.6 \pm 42.6 ^{aA}	94.6 \pm 79.3 ^{ab}	114.8 \pm 29.2 ^{aAB}	60.6 \pm 35.2 ^{b*A}
	3	107.7 \pm 38.0 ^{aB}	66.8 \pm 55.0 ^b	106.9 \pm 28.5 ^{aA}	58.5 \pm 33.0 ^{b**AB}
	14	114.5 \pm 26.6 ^{aAB}	87.1 \pm 61.8 ^{ab}	91.1 \pm 32.3 ^{aA}	55.1 \pm 26.8 ^{b**B}
	21	121.8 \pm 42.9 ^{aAB}	75.9 \pm 58.0 ^b	114.8 \pm 26.4 ^{aB}	70.8 \pm 36.7 ^{b**AB}
C vitamini (mg/dl)	0	0.80 \pm 0.2 ^A	0.87 \pm 0.2 ^A	0.96 \pm 0.2 ^A	0.90 \pm 0.2 ^A
	3	0.64 \pm 0.1 ^{aB}	1.04 \pm 0.2 ^{bB}	0.85 \pm 0.2 ^{cB}	1.09 \pm 0.2 ^{b***B}
	14	0.81 \pm 0.2 ^{aA}	0.94 \pm 0.2 ^{abAB}	0.87 \pm 0.1 ^{aBC}	1.03 \pm 0.1 ^{b*AB}
	21	0.71 \pm 0.2 ^{aA}	0.93 \pm 0.2 ^{abAB}	0.71 \pm 0.1 ^{aAC}	0.91 \pm 0.2 ^{b**C}
E vitamini (mg/d)	0	0.259 \pm 0.1 ^{aA}	0.252 \pm 0.9 ^{aA}	0.219 \pm 0.8 ^{abA}	0.178 \pm 0.6 ^{b*A}
	3	0.176 \pm 0.5 ^B	0.195 \pm 0.7 ^B	0.234 \pm 0.7 ^B	0.225 \pm 0.7 ^B
	14	0.125 \pm 0.4 ^{aCD}	0.141 \pm 0.5 ^{abCD}	0.167 \pm 0.5 ^{bCD}	0.142 \pm 0.5 ^{ab*C}
	21	0.118 \pm 0.3 ^{aD}	0.136 \pm 0.3 ^{aD}	0.175 \pm 0.4 ^{bD}	0.150 \pm 0.5 ^{ab*AC}

a, b, c, d : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A, B, C, D:Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

*: $p < 0.005$ **: $p < 0.001$ ***: $p < 0.001$

Tablo 6. Tüm gruptaki hayvanlara ait vitamin düzeylerinin grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

		A				B				C				D			
		$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
A Vitamini ($\mu\text{g/dl}$)	0	***	***	***		**	*	***		***	-	-		***	***	***	**
	3		**	***			-	**			***	***			**	***	**
	14			-				***				-					*
	21																
β -karoten ($\mu\text{g/dl}$)	0	**	-	-		-	-	-		-	*	-		-	-	-	-
	3		-	-			-	-			-	-			-	*	*
	14			-				-				-				*	*
	21																
C Vitamini (mg/dl)	0	**	-	-		*	-	-		**	*	-		***	-	***	**
	3		*	-			-	-			-	*			-	**	**
	14			-				-				-				**	**
	21																
E Vitamini (mg/d)	0	***	***	***		***	***	***		**	*	-		*	**	*	*
	3		***	***			**	**			***	***			***	**	**
	14			-				-				-					-
	21																

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

Tablo 7. Tüm gruplardaki hayvanların antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipid peroksidasyon (MDA) düzeylerinin aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemleri

		A		B		C		D	
		X	Sx	X	Sx	X	Sx	X	Sx
Katalaz (U/gHb)	0	22.3	± 4.6 ^{aA}	33.0	± 7.5 ^{bA}	29.9	± 2.3 ^{bAC}	22.2	± 5.0 ^{a***AB}
	3	26.9	± 2.9 ^{aB}	39.5	± 4.5 ^{bB}	38.5	± 5.4 ^{bB}	22.7	± 4.6 ^{c***B}
	14	29.9	± 2.8 ^{aC}	38.5	± 6.8 ^{bB}	28.6	± 3.4 ^{aA}	24.7	± 4.6 ^{c***BC}
	21	31.7	± 1.5 ^{aC}	40.0	± 3.5 ^{bB}	31.6	± 2.2 ^{aC}	26.0	± 3.3 ^{c***C}
Süper oksit dismutaz (U/gHb)	0	463.2	± 44.9 ^{aA}	579.8	± 27.9 ^{bA}	866.2	± 54.9 ^{cA}	706.1	± 35.2 ^{d***A}
	3	421.8	± 8.4 ^{aB}	539.3	± 31.2 ^{bB}	988.6	± 45.3 ^{cB}	768.6	± 59.4 ^{d***B}
	14	368.5	± 22.2 ^{aC}	493.8	± 20.7 ^{bC}	690.2	± 47.5 ^{cC}	517.4	± 32.6 ^{b***C}
	21	358.6	± 22.7 ^{aC}	421.5	± 12.7 ^{bD}	488.7	± 33.5 ^{cD}	469.0	± 28.8 ^{c***D}
Glutathion peroksidaz (U/gHb)	0	19.0	± 4.5 ^{aA}	19.7	± 3.0 ^{aA}	51.0	± 4.9 ^{bA}	67.5	± 10.5 ^{c***A}
	3	53.0	± 14.2 ^{aB}	46.5	± 5.3 ^{abB}	43.1	± 5.0 ^{bB}	27.5	± 7.9 ^{c***B}
	14	46.0	± 5.0 ^{aB}	51.6	± 7.4 ^{bB}	37.6	± 5.8 ^{cC}	26.4	± 5.4 ^{d***B}
	21	42.2	± 10.8 ^{aB}	19.5	± 2.3 ^{bA}	23.7	± 4.2 ^{bcD}	28.1	± 5.1 ^{c***B}
Malondialdehit (nmol/ml)	0	0.6	± 0.5 ^A	0.7	± 0.1 ^A	0.6	± 0.1 ^{AC}	0.6	± 0.1 ^A
	3	0.9	± 0.6 ^{aB}	0.8	± 0.1 ^{abB}	0.7	± 0.1 ^{bcB}	0.6	± 0.1 ^{c***A}
	14	1.5	± 0.5 ^{aC}	0.5	± 0.1 ^{bC}	0.6	± 0.1 ^{bC}	0.5	± 0.1 ^{b***B}
	21	0.7	± 0.1 ^A	0.7	± 0.1 ^A	0.7	± 0.1 ^B	0.8	± 0.1 ^C

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A, B, C, D :Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

*: p<0.005 **: p<0.001 ***: p<0.001

Tablo 8. Tüm gruplardaki hayvanların antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipid peroksidasyon (MDA) sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

		A				B				C				D			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
Katalaz (U/gHb)	0		*	***	***		*	*	*		-	-	*		***	-	-
	3			*	***			-	-			-	*		***	***	**
	14				-			-	-			-	-				**
	21																
Süper oksit dismutaz (U/gHb)	0		**	***	***		***	***	***		*	***	***		***	***	***
	3			***	***			***	***			***	***		***	***	***
	14				-			***	***			***	***				***
	21												***				***
Glutathion peroksidaz (U/gHb)	0		***	***	***		***	***	-		-	-	***		***	***	***
	3			-	-			-	***			-	***		***	***	***
	14				-			***	***			***	***				***
	21												***				***
Malondial- dehit (nmol/ml)	0		*	**	-		*	**	-		***	***	***		-	**	***
	3			*	***			***	*		***	***	***		**	***	***
	14				***			***	***			***	***				**
	21												***				**

* :p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Tartışma

Çalışma gruplarındaki hayvanların tüm deneme günlerindeki (0., 3., 14. ve 21.) klinik muayene bulguları ortalama değerlerinin (vücut sıcaklıkları, kalp frekansları, solunum frekansları ve rumen hareketleri) kaynaklarda belirtilen (5, 6, 17) sağlıklı hayvanlardaki bildirimlerle uyum içinde olduğu görülmüştür.

Gruplar arasında 3. gündeki vücut sıcaklıkları değerlerindeki artışlar ile grup içi günleri arasındaki genelde aşı uygulamasını takiben 3. günde vücut sıcaklıkları (C ve D gruplarındaki artışlar önemsiz), kalp ve solunum frekanslarındaki önemli derecede artışlar ve rumen hareketlerindeki geçici azalmalar

(önemsiz derecede) aşı uygulamasının normal sonuçları olarak gözlenebilir (2).

Araştırma hayvanlarına ait tüm günlerindeki (0., 3., 14. ve 21.) total lökosit, mikro hematokrit, hemoglobin miktarı ve formül lökosit (lenfosit, nötrofil, eozinofil, monosit ve bazofil yüzdeleri) ortalama değerlerinin normal sınırlarda olduğu (3, 5, 6, 27) belirlenmiştir.

Reddy ve ark. (14), günlük vitamin E ihtiyaçlarını saptamak amacıyla 0-6 aylık buzağuları kontrol (0), 125, 250 ve 500 IU vitamin E/gün/buzağı olacak şekilde E vitamini uygulayarak çeşitli deneme gruplarına ayırmışlar ve çalışma sonucunda tüm deneme grupları arasında hemoglobin ve mikrohematokrit değerleri arasında önemli bir farklılık tespit etmemişlerdir.

Reddy ve ark. (15), yaklaşık 6 haftalık buzağuları üç deneme grubuna ayırarak bu buzağılara 6 hafta süreyle 0, 1400 ve 2800 mg dl- α -tocopherol asetatı bir hafta arayla oral olarak vermişler ve ayrıca 1400 mg dl- α -tocopherol asetatı yine birer hafta arayla oral olarak vermişler enjekte etmişlerdir. Kontrollerle karşılaştırıldığında oral ve enjeksiyon tarzında E vitamini verilen hayvanlar arasında lenfosit stimülasyonu bakımından önemli farklılıklar saptanmıştır.

Keçeci ve ark. (7), vitamin C ve çevre sıcaklığının İsviçre esmeri boğalarda bazı hematolojik değerlere olan etkilerini araştırdıkları çalışmada, kontrol ve C vitamini uygulanan boğalarda 20.8°C çevre sıcaklığı şartlarında belirledikleri hemoglobin miktarı artışı dışında aynı ısı derecelerinde vitamin C uygulanan ve uygulanmayan hayvanların kan parametrelerinde (hematokrit, total lökosit) önemli bir farklılık saptamamışlardır. Yine aynı çalışmada C vitamini uygulanan ve uygulanmayan boğalarda sadece yüksek ısıda (20.8°C çevre ısı şartlarında) akyuvar sayılarının fazla olduğu ($p<0.05$) fakat akyuvar tiplerinin oranları arasında ise önemli bir fark olmadığını ortaya koymuşlardır.

Çalışmada, total lökosit ve mikrohematokrit değerler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmayışı, ayrıca grup içi günleri arasında lenfosit yüzdeleri bakımından genelde farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olması (B grubunda 0.-3. günler dışında) yukarıda sözü edilen literatür (7, 14, 15) bilgileriyle uyum içerisinde.

Yaraloğlu (25) yapmış olduğu çalışmada, sağlıklı erkek sığırların kan plazmasında glutathion peroksidaz (GSH-Px) aktivitesini ortalama 54.81 U/g Hb (21.73-88.27 U/g Hb arasında), katalaz (CAT) aktivitesini ortalama 89.72 U/g Hb (57.9 -119.1 U/g

Hb arasında) ve lipit peroksidasyon (MDA) düzeylerini ortalama 3.01 mmol/ml (1.99-3.98 mmol/ml) plazma olarak belirlemiştir. Yalnız tespit ettiği katalaz ve lipit peroksidasyon düzeylerini yeterli literatür bilgisine rastlayamadığı ve mevcut literatürlerde de farklı tayin metotları kullanıldığı için tartışmadığını ifade etmiştir.

Scholz ve ark. (20), kan GSH-Px aktivitesini buzağılarda 20-50 U/g Hb, Wilson ve ark. (24) sığırlarda kan GSH-Px aktivitesini 2-30 U/gHb ve Ozan ve ark (12) sağlıklı sığırlardaki kan GSH-Px aktivitesini 75.62 U/gHb olarak bildirmişlerdir.

Çalışma sonucunda elde edilen değerlerden katalaz ve lipit peroksidasyon düzeylerinin Yaraloğlu (25)'nin bildirimleriyle uyum içerisinde olmadığı, ancak glutathion peroksidaz değerlerinin araştırmacılar (20, 24, 25) tarafından bildirilen en düşük (2 U/g Hb) ve en yüksek (88.2 U/g Hb) değerler arasında olduğu görülmektedir. Enzim aktivitelerinin ölçülmesi ve değerlendirmesinde; örneklerin saklanması zorluklar, özellikle GSH-Px aktivitesi tayini için hemoliz oluşturmada farklı maddelerin kullanılması, enzim konsantrasyonlarını ifade etmede kullanılan ünite birimindeki bazı tutarsızlıklar, ayrıca her laboratuvar tarafından farklı bir ölçüm metodunun kullanılması gibi nedenlerden dolayı dikkatli olunmalıdır (20, 23) .

Yapılan taramalarda, sığırlarda süperoksit dismutaz enzim değerleriyle ilgili bir yayına rastlanmadığı için tespit edilen düzeyler tartışılmamıştır.

Çalışma hayvanlarında katalazın sadece aşı yapılan grupta devamlı belirgin artışı stresin devam etmesi ile açıklanabilir. Ancak B ve C gruplarında vitamin uygulamalarının 3. günde artışı önleyemediği, D grubunda ise AD₃E ve C vitaminlerinin bir arada uygulanmasının 3. günde önemsiz derecede artışa neden olduğu; süper oksit dismutaz değerlerinin gruplar arasında her ne kadar istatistiksel olarak önemlilik saptansa da vitamin uygulamalarından etkilenmediği ve glutathion peroksidaz değerlerinin özellikle C (AD₃E) ve D (AD₃E + C) gruplarında uygulanan vitaminlerden olumlu etkilendiği ve lipit peroksidasyon düzeylerinin B, C ve D gruplarında uygulanan vitaminlerden olumlu etkilendiği, özellikle D grubunda 3. günde artışın olmayışı ve 14. gündeki düşüşler uygulanan vitaminlerle açıklanabilir.

Sonuç olarak; aşılamanın hayvanlarda bir stres faktörü olarak radikal düzeylerini arttırabileceği, aşılama esnasında C ve E vitamini enjeksiyonlarının ise stresin olumsuz etkilerini azaltabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Aebi H. Katalase in vitro. *Methods in enzymology*. Volume 105. New York. Academic Pres 1984; 121-126.
2. Aksın M, Adıbeş M, Erdem H ve ark. Şap Hastalığı ile Mücadele. Ankara. Şap Enstitüsü, 1997; 5-20.
3. Batmaz H. Klinik olarak normal sığırlar ile retikulo-peritonitis travmatikalı sığırların teşhis ve prognozunda serum protein elektroforezi ve SGOT, SGPT ile LDH enzim düzeyleri üzerinde karşılaştırmalı araştırmalar. *Doğa Tr J Vet Anim Sci* 1990; 14: 467-478.
4. Beutler E. *A Manual of Biochemical Methods*. 2nd ed. New York. Grunef Strotton, 1975.
5. Blood DC, Radostits DM and Handerson JA. *Veterinary Medicine*. London. Bailliere Tindall, 1990.
6. Bradfort PS. *Large Animal Internal Medicine*. Philadelphia. The C.V. Mosby Company, 1990.
7. Keçeci T, Keskin E ve Durgun Z. Çevre ısısı ve vitamin C'nin İsviçre esmeri boğalarda kan serumu tiroit hormon düzeyleri ile bazı hematolojik değerler üzerindeki etkileri. *Tr J Anim Sci* 2000; 24: 353-359.
8. Kyaw A. A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin Chim Acta* 1978; 16: 151-157.
9. Lanhance PA, Nakat Zeina BS and Woo-Sik Jeong MS. Antioxidants: An integrative approach. *Nutr*. 2001; 17: 835-838.
10. Martinek RG. Method for determination of vitamin E (total tocopherols) in serum. *Clin Chem* 1964; 10(12): 1078-1086.
11. Miller JK and Slebodzinska EB. Oxidative stress, antioxidants and animal functions. *J Dairy Sci* 1993; 76: 2812-2823.
12. Ozan ST, Yarahöğlü S, Yılmaz S, ve ark. *Theileria annulata* ile enfekte sığırlarda GSHPx, G6PD, Arginaz aktiviteleri ile bazı biyokimyasal parametreler. *Tr J Vet Anim Sci* 1999; 23(3): 552-557.
13. RANSOD Superoksid dismutase kiti, RANDOX Laboratories Ltd, Ardmore, United Kingdom. Diamond Road, Crumlin Co.
14. Reddy PG, Morrill JL and Frey RA. Vitamin E requirements of dairy calves. *J Dairy Sci* 1987; 70: 1145-1155.
15. Reddy PG, Morrill JL, Minocha HC et al. Effect of supplemental vitamin E on the immune system of calves. *J Dairy Sci* 1986; 69: 164-171.
16. Regina BL and Traber MG. Vitamin E: Function and Metabolism. *The FASEB Journal* 1999; 13: 1145-1155.
17. Rosenberger G. *Krankheiten des Rindes*. Berlin. Verlag Paul Parey, 1994.
18. Roth JA, Kaeberle ML. In vivo effect of ascorbic acid on neutrophil function in health and dexamethasone-treated cattle. *Am J Vet Res* 1985; 46: 2434-2437.
19. Satoh K. Serum Lipid peroxidase in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978; 90: 37-43.
20. Scholz RW, Todhunter DA and Cook LS. Distribution of selenium dependent and selenium nondependent glutathion peroxidase activity in tissues of young cattle. *Am J Vet Res* 1981; 42 (10): 1724-1729.
21. Sies H and Stahl WM. Vitamin E and C, β -carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1315-1321.
22. Suzuki J and Katoh N. A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrofotometer. *Jpn J Vet Sci* 1990; 52 (6): 1281-1283.
23. Waldner C, Campbell J, Jim GK and al. Comparison of three methods selenium assesment in cattle. *Can Vet J* 1998; 39: 225-231.
24. Wilson PS and Judson GJ. Gluthation peroxidase activity in bovine and ovine erythrocytes in relation to blood selenium concentration. *Br Vet J* 1976; 132: 428-434.
25. Yarahöğlü S. Ruminantlarda Kan ve Karaciğer Dokusu Antioksidan Enzim Düzeyleri ve Lipit Peroksidasyon Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Elazığ. 2000.
26. Yogi K. Assay for Blood Plasma or Serum. *Methods in Enzymol*. 1984; 105: 328-331.
27. Yılmaz K ve Oflu A. *Veteriner Hematoloji El Kitabı*. Hatipoğulları Yayınları. No:54, Ankara. 1989.