



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2011: 25 (2): 53 - 56
http://www.fusabil.org

Tayleriyozisli Sığırlarda Antioksidan Parametrelerdeki Değişiklikler

Meltem KIZIL¹
Ersay BAYDAR²
Ömer KIZIL²

¹Tarım İl Müdürlüğü,
İl Kontrol Laboratuvar
Müdürlüğü,
Elazığ, TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışma, tayleriyozisli sığırlarda oksidatif stres parametrelerindeki değişiklikleri belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada materyal olarak hematokrit değerlerine göre iki eşit gruba ayrılmış 20 adet tropikal tayleriyozisli sığır ile 10 adet klinik olarak sağlıklı sığır kullanılmıştır. Çalışmadaki tüm sığırlarda eritrosit lipid peroksidasyonu, plazma katalaz, glutathiyon peroksidaz (GSHPx), vitamin E ve vitamin C düzeyleri belirlenmiştir. Çalışmada, kontrol grubuyla hasta gruplar arasında vitamin E ($p<0.05$), vitamin C ($p<0.05$), MDA ($P<0.01$), katalaz ($P<0.01$) ve glutathiyon peroksidaz ($P<0.001$) gibi oksidatif parametrelerde önemli derecede farklılıklar belirlenmiştir. Sonuç olarak, *Theileria annulata* ile enfekte sığırlarda CAT, GSHPx, vitamin E ve vitamin C'nin azalması ve MDA düzeylerindeki artışlar hastalıkta oksidatif stresin geliştiğinin göstergesi olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sığır, Tayleriyozis, Antioksidanlar.

Changes of Antioxidant Parameters in Cattle with Theileriosis

The study was conducted to detect the changes of oxidative stress parameters in cattle with Theileriosis. In this study, 20 cattle with tropical theileriosis, divided into 2 equal groups in according to their hematocrit values, and 10 healthy cattle were used. The erythrocyte lipid peroxidation, plasma catalase, glutathione peroxidase, vitamin E, and vitamin C levels were determined in all groups cattle. The significantly differences between control and sick cattle was determined in oxidative stress parameters such as vitamin E ($p<0.05$), vitamin C ($p<0.05$), MDA ($P<0.01$), catalase ($P<0.01$) and glutathione peroxidase ($P<0.001$). In conclusion, the decrease of CAT, GSHPx, vitamin E, and vitamin C, and the increase of MDA in the cattle of theileriosis was determined that the indicator of oxidative stress during disease.

Key Words: Cattle, Theileriosis, Antioxidants.

Giriş

Theileria annulata'nın neden olduğu tropikal tayleriyozis, ülkemizde görülen en önemli sığır hastalıklarından birisidir (1). Hastalığa karşı kültür ırkı hayvanlar yerli ırk hayvanlara göre daha duyarlı olup, hastalık özellikle yüksek verimli hayvanlarda verim kayıplarına ve ölümlere neden olmaktadır (2-4). Hastalığın klinik semptomları konakçının duyarlılığına, yaşına ve etkenin patojenitesine göre değişiklik gösterir (2). Klinik semptomlar genel olarak vücut ısısında artış, lenf yumrularında büyüme, mukozalarda solgunluk, peteşiyel kanamalar, anemi ve zayıflama şeklinde ortaya çıkar (3, 5).

Serbest radikal terimi, yapısında en az bir tane eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya molekülleri tanılamada kullanılan genel bir terimdir (6). Aslında çoğu güçlü toksik etkili olan serbest radikaller normal metabolik faaliyetler sırasında üretilmekte ve bu radikallerin bazı fizyolojik olaylarda yararlı etkileri bulunmaktadır (7, 8). Organizma oksidanlara karşı etkili olan bazı savunma sistemlerine de sahiptir. Bu sistemde başlıca antioksidan enzimler ve zincir kıran antioksidanlar yer almaktadır. Katalaz, glutathiyon peroksidaz, yağda çözünen vitamin E ve suda çözünen vitamin C bu sistemin önemli elemanlarıdır (6, 7, 9). Oksidatif stresin gelişip gelişmediğinin belirlenmesinde lipid peroksidasyonun (malondialdehid konsantrasyonunun, MDA) belirlenmesi en yaygın kullanılan metoddur (10). Oksidatif stres terimi hücrelerdeki oksidant / antioksidan maddeler arasındaki güçlü dengenin oksidanlar lehine kayması durumunu ifade eder. Sonuçta hücresel yapılarda oksidan maddeler birikerek çeşitli fizyolojik olayların aksamasına neden olurlar (11, 12).

Bu çalışma, tayleriyozisli sığırlarda antioksidan parametrelerde ne gibi değişikliklerin olduğunu belirlemek amacıyla yapılmıştır

Gereç ve Yöntem

Araştırmanın materyalini F.Ü. Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Kliniğine muayene ve tedavi için getirilen 20 adet tayleriyozisli sığır ile 10 adet klinik olarak

Geliş Tarihi : 13.02.2011
Kabul Tarihi : 23.03.2011

Yazışma Adresi Correspondence

Ömer KIZIL

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

omerkizil@yahoo.com

sağlıklı sığır (Kontrol) oluşturmuştur. Tayleriyozisli sığırlar hematokrit değerlerine göre 2 ayrı gruba ayrılmış ve 1. grubu hematokrit değeri %15-20 arasında (G1), 2. grubu ise hematokrit değeri %10-15 arasında (G2) olan 10'ar adet sığır oluşturmuştur. Çalışmada kullanılan hiçbir hayvan *Theileria annulata*'ya karşı aşılanmamıştır. Detaylı klinik muayeneleri yapılan tüm hayvanlardan tekniğine uygun olarak kulak uçlarından alınan kan ile yayma preparatlar hazırlanmış, Giemsa ile boyanmış ve ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelenen frotilerde *Theileria annulata*'nın piroplazm formlarının görülmesi ile hastalık teşhis edilmiştir.

Tayleriyozis saptanan hayvanlar ile kontrol hayvanlarının v. jugularis'lerinden 10'ar ml EDTA'lı kan örneği alınmış, 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek plazmaları çıkarılmış ve analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Ayrıca 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. Bu hemolizat lipid peroksidasyonun tayininde kullanılmıştır. Lipid peroksidasyonu Placer ve ark.'nın (13); plazma katalaz (CAT) tayini Goth (14) ve plazma glutathiyon peroksidaz (GSHPx) tayini Lawrance'ın (15) kullandığı metoda göre

tayin edilmiştir. Antioksidan vitaminlerden olan vitamin E düzeyleri Martinek (16) ve vitamin C düzeyleri Kyaw (17) tarafından tayin edilen fosfotungstik asit metodu kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel analizler SPSS Ms Windows Release 10.0 programı yardımıyla, bağımsız t-testi kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular

Tayleriyozisli sığırlar ile kontrol grubu hayvanlarda saptanan oksidatif stres parametreleri ile bulguların gruplar arasındaki istatistiksel önem dereceleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmada, vitamin E bakımından kontrol grubuyla hasta gruplar arasında önemli derecede ($p<0.05$) fark belirlenmiştir. Vitamin C bakımından ise hem kontrol grubu ile hasta gruplar arasında, hem de grup 1 ile grup 2 arasında önemli derecede ($p<0.05$) fark saptanmıştır ($p<0.01$, $p<0.001$). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasta gruplarda MDA düzeylerinin önemli derecede ($P<0.01$) artış gösterdiği, buna rağmen katalaz ($P<0.01$) ve glutatyon peroksidaz ($P<0.001$) aktivitelerinin önemli derecede azaldığı belirlenmiştir.

Tablo 1. Tayleriyozisli sığırlar ile kontrol grubu hayvanlarda saptanan oksidatif stres parametreleri ile bulguların gruplar arasındaki istatistiksel önem dereceleri.

Antioksidan parametreler	Grup 1 (mean \pm SD)	Grup 2 (mean \pm SD)	Kontrol (mean \pm SD)	P
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	2.45 \pm 0.15 ^a	2.59 \pm 0.12 ^a	1.74 \pm 0.14 ^b	**
Vitamin E ($\mu\text{g / L}$)	1.24 \pm 0.08 ^a	1.11 \pm 0.06 ^a	1.66 \pm 0.12 ^b	*
Vitamin C (mg / L)	2.92 \pm 0.02 ^a	2.64 \pm 0.07 ^b	3.79 \pm 0.01 ^c	*
GSHPx (U/g protein)	0.87 \pm 0.1 ^a	0.71 \pm 0.05 ^a	1.21 \pm 0.06 ^b	***
CAT (kU/L)	82.6 \pm 3.8 ^a	72.3 \pm 4.15 ^a	109.17 \pm 6.82 ^b	**

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

Tartışma

Oksidatif stres, birçok hastalıkta sekonder olarak hastalığın şiddetini artıran bir özelliğe sahiptir. Şayet oksidatif strese karşı organizmanın sahip olduğu savunma mekanizmaları yetersiz kalırsa, hücrelerde oksidatif hasar gelişerek birçok önemli fonksiyonun aksamasına neden olacaktır (18, 19).

Lipid peroksidasyonu, başlıca doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu ifade eden ve enzimatik olmayan bir zincir reaksiyonudur (20). Organizmada oksidatif stresin varlığı başlıca lipid peroksidasyonu olarak bilinen süreçte son ürün olarak oluşan malondialdehid (MDA) düzeylerinin belirlenmesiyle ortaya konmaktadır. Artmış MDA düzeyleri oksidatif stresin önemli belirtisidir (10, 20).

Eritrosit membranı çok zincirli doymamış yağ asitleri bakımından zengin olduğundan lipid peroksidasyona çok duyarlıdır (21, 22). Bu çalışmada eritrosit MDA

düzeylerinde hasta gruplarda saptanan artmış düzeyler, hastalık esnasında oksidatif stresin geliştiğinin göstergesidir. Katalaz ve glutatyon peroksidaz düzeylerindeki azalmalar ise hastalık esnasında gelişen radikal artışını nötralize etmek için bu enzimlerin yoğun kullanıldıklarının göstergesidir. Aneminin daha şiddetli olduğu 2. grupta MDA düzeyindeki artış ile CAT ve GSHPx düzeylerindeki azalmanın 1. gruba nazaran daha şiddetli olması, hastalığın dönemi gözetilmeksizin, oksidatif stresin bu grupta daha şiddetli geliştiğinin göstergesidir. Bu bağlamda artan oksidatif stres sonucu oluşan radikallerin eritrosit membranında neden olabileceği yapısal değişikliklerin, aneminin gelişimine sekonder olarak katkıda bulunabileceğini söylemek mümkündür. Çünkü yapısal olarak değişikliğe uğramış eritrositler eritrofagositoz olarak bilinen işleme makrofajlar tarafından vücuttan uzaklaştırılırlar ve bu durum şiddetli olursa anemiye neden olur (22, 23). Friedman (24) oksidatif stresin eritrositlerde hasara neden olduğunu bildirmiştir. Çalışmada tayleriyozisli

sığırların MDA düzeylerinde saptanan önemli artışlar, benzer çalışmaların (23, 25) sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur.

Vitamin E (alfa tokoferol formunda) biyolojik membranlardaki lipoproteinleri oksidasyondan koruyan en önemli yağda çözünen antioksidandır (7, 26, 27). Bunun yanı sıra vitamin C (askorbik asit) ise biyolojik sıvılardaki en güçlü suda eriyen zincir reaksiyonlarını kıran antioksidandır (28). Lipid peroksidasyonu önlemede vitamin E ile vitamin C arasındaki sinerjizm iyi bilinmektedir. Vitamin C, vitamin E'nin antioksidan etkisini artırırken organizmada düzeylerinin azalmasını da önlemektedir (26, 29). Her ne kadar ruminantlar kendi ihtiyaçları olan düzeyde vitamin C sentezleyebilseler de, ruminal mikroflora tarafından vitamin C'nin yıkılması nedeniyle zaman zaman yetersizlikler oluşabilmektedir

(30). Bu çalışmada zincir kıran antioksidanlardan olan vitamin E ve C'nin hasta gruplardaki düzeyleri kontrollere nazaran önemli derecede düşük saptanmıştır. Bu azalmaların nedeninin, yine bozulmuş olan oksidan dengeyi dengelemek adına bu vitaminlerin yoğun kullanımıyla alakalı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, *Theileria annulata* ile enfekte sığırlarda plazmadaki antioksidanların (CAT, GSHPx, vitamin E ve vitamin C) azalması ve eritrosit MDA düzeylerindeki artışlar hastalıkta oksidatif stresin geliştiğinin önemli göstergeleridir. Ayrıca oksidatif stres, direk olarak olmasa da, birçok olayda hastalığın şiddetini artıran sekonder faktör olarak etkilediğinden bu tip hastalıklarla mücadele planlanırken oksidatif stresin göz ardı edilmemesinin gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Sayın F, Dinçer S, Karaer Z, ve ark. Studies of the epidemiology of Tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in cattle in central Anatolia, Turkey. *Tropical Anim Health Product* 2003; 35: 521-539.
2. Gill BS, Bhattacharyulu Y, Kaur D. Symptoms and pathology of experimental bovine tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection). *Annal Parasitol* 1977; 52: 597-608.
3. Omer OH, El-Malik KH, Mahmoud OM, et al. Haematological profiles in pure breed cattle naturally infected with *Theileria annulata* in Saudi Arabia. *Vet Parasitol* 2002; 107: 161-168.
4. Girewall A, Ahuja JS, Singha SPS, Chaudhary KC. Status of lipid peroxidation, some antioxidant enzymes and erythrocytic fragility of crossbred cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet Res Commun* 2005; 29: 387-394.
5. Forsyth LMG, Minns FC, Kirvar E, et al. Tissue damage in cattle infected with *Theileria annulata* accompanied by methastasis of cytokine-producing schizont-infected mononuclear phagocytes. *J Comp Pathol* 1999; 120: 39-57.
6. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *Faseb J* 1987; 1: 441-446.
7. Gutteridge JMC, Hallivell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15(4): 129-135.
8. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stres phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 620-650.
9. Osada H, Watanabe Y, Nishimura Y, et al. Profile of trace element concentrations in the fetoplacental unit in relation to fetal growth. *Acta Obstet Gynecol Scan* 2002; 81: 931-937.
10. Moore K, Roberts LC. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 1998; 28: 659-671.
11. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1995; 49: 577-587.
12. Lightbody JH, Stevenson LM, Jackson F, Donaldson K, Jones DG. Comparative aspects of plasma antioxidant status in sheep and goats, and the influence of experimental abomasal nematode infection. *J Comp Pathol* 2001; 124 (2-3): 192-199.
13. Placer AZ, Linda LC, Johnson B. Estimation of product of lipid peroxidation (Malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
14. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 1991; 196: 143-152.
15. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952-958.
16. Martinek RG. Method for determination of vitamin E (total tocopherols) in serum. *Clin Chem* 1964; 10: 1078-1086.
17. Kyaw A. A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin Chim Acta* 1978; 16: 151-157.
18. Gutteridge JMC. Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun* 1993; 19(3): 141-158.
19. Kızıl O, Özdemir H, Karahan M, Kızıl M. Oxidative stres and alterations of antioxidant status in goats naturally infected with mycoplasma agalactia. *Rev Med Vet* 2007; 158 (6): 326-330.
20. 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.
21. 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(1-2): 155-161.
22. Grewal A, Ahuja CS, Singha SPS, Chaudhary KJ. Status of lipid peroxidation, some antioxidant enzymes and erythrocytic fragility of crossbred cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet Res Commun* 2005; 29: 387-394.
23. Saluja PS, Gupta SL, Malhotra DV, Ambawat HT. Status of plasma malondialdehyde in experimental *T. annulata*

- infection in cross bred bovine calves. *Indian Vet J* 1999; 76: 379-381.
24. Friedman MJ. Oxygen damage mediates variant red cell resistance to malaria. *Nature* 1979; 280: 245-247.
25. Nazirođlu M, Saki CE, Sevgili M. The effect of buparvaquone treatment on the levels of some antioxidant vitamins, lipid peroxidation and glutathione peroxidase in cattle with Theileriosis. *J Vet Med* 1999; 46: 233-239.
26. Leung HW, Vang MJ, Mavis RD. The cooperative interaction between vitamin E and vitamin C in suppression of peroxidation of membrane phospholipids. *Biochim Biophys Acta* 1981; 664: 266-272.
27. Vannucchi H, Jordoa-Junior AA, Igllessias AC, Morandi MV, Chiarello PG. Effects of different dietary concentrations of vitamin E on lipid peroxidation in rats. *Arch Latinoam Nutr* 1997; 47: 34-37.
28. Doba T, Burton GW, Ingold KU. Antioxidant and co-antioxidant activity of vitamin C. The effect of vitamin C, either alone or in the presence of vitamin E or a water soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipids liposomes. *Biochim Biophys Acta* 1985; 835: 298-303.
29. Niki E, Saito T, Kawakami A, Kamiya Y. Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. *J Biol Chem* 1984; 259: 4177-4182.
30. Madanat A, Zendulkova D, Pospisil Z. Contagious agalactia af sheep and goats: A review. *Acta Vet* 2001; 70: 403-412.