



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2016; 30 (2): 79 - 81
<http://www.fusabil.org>

Omfalitisli Buzağlarda Bazı Oksidatif Stres Parametre Düzeylerinin Belirlenmesi

Kadir BOZUKLUHAN¹
Oğuz MERHAN²
Metin ÖĞÜN²
Mete CİHAN³
Gürbüz GÖKÇE⁴

¹ Kafkas Üniversitesi,
Kars Meslek Yüksekokulu,
Kars, TÜRKİYE

² Kafkas Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Kars, TÜRKİYE

³ Kafkas Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Kars, TÜRKİYE

⁴ Kafkas Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Kars, TÜRKİYE

Bu çalışmanın amacı neonatal dönemde sık görülen göbek yangılarında (omfalitis) oksidatif stres parametre düzeylerinin belirlenmesidir. Bu amaçla çalışmada kontrol grubu olarak 10 adet klinik açıdan sağlıklı buzağı ve 1-2 aylık, 20 adet farklı cinsiyette (16 erkek, 4 dişi) omfalitisli toplam 30 adet montefon ırkı buzağı kullanıldı. Biyokimyasal analizler için kan örnekleri *V. jugularis* ten alındı. Alınan kan örneklerinden bir miktarı tam kan olarak ayrıldıktan sonra geriye kalan kanların serumları elde edildi. Tam kan redükte glutatyon (GSH), serum malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri kolorimetrik yöntemlerle belirlendi. Omfalitisli buzağlarda MDA ve NO düzeyleri artarken, GSH düzeyinin azaldığı belirlendi. Sonuç olarak, omfalitisin oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna sebep olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, omfalitis, oksidatif stres

Determination of the Levels of Some Oxidative Stress Parameters in Calves with Omphalitis

The objective of this study was to investigate the oxidative stress parameter levels in navel inflammation (omphalitis) seen frequently during neonatal period. For this purpose, 10 clinically healthy calves as control and 20 calves with omphalitis at 1-2 months of age with different genders (16 males, 4 females) a total of 30 Brown Swiss calves were used. Blood samples were collected from *V. jugularis* for biochemical analyses. Some part of the blood samples were stored without any process as whole blood. The serum was separated from remaining blood samples. Whole blood reduced glutathione (GSH), serum malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels were determined by colorimetric methods. Levels of MDA and NO were determined to increase in blood whereas GSH decreased in calves with omphalitis. In conclusion, the results indicated that omphalitis causes oxidative stress and lipid peroxidation.

Key Words: Calves, omphalitis, oxidative stress

Giriş

Buzağlarda neonatal dönemde ortaya çıkan, önemli ekonomik kayıplara neden olan hastalıklar arasında göbek bölgesine ilişkin lezyonlar önemli bir yer tutmaktadır (1, 2).

Doğum sonrasında göbek kordonunun hijyenik koşullarda ve yeterli uzunlukta kesilmemesi, barınak ortamının hijyenik olmayışı, yetersiz kolostrum alınması gibi faktörlerin yanısıra ortamda patojenik mikroorganizmaların bulunması da göbek bölgesinde lezyonların ve enfeksiyonun oluşumunu artırır (1, 3-5).

Normal koşullarda, organizmada oksidan ve antioksidanlar denge halindedir. Ancak yangı, enfeksiyon ve stres gibi durumlarda bu denge oksidanlar lehine bozularak hücre ya da dokularda hasara neden olabilen oksidatif stres oluşturmaktadır (6, 7). Oksidatif streste konsantrasyonu artan serbest radikaller; lipid, karbonhidrat, protein ve nükleik asit gibi molekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olurlar (8). Hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olan serbest oksijen radikalleri, bir taraftan zardaki yağ asitlerini etkileyerek yeni radikallerin oluşumuna neden olurken diğer taraftan açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksidlerine dönüştürürler (7, 9). Lipid peroksidlerden en iyi bilineni araşidonik asidin oksijenasyonu ya da doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı sonucu oluşan malondialdehit (MDA)'dır (9, 10). İyon transportu, enzim aktiviteleri ve hücre membranının bozulması gibi değişimlere neden olan MDA, hücresel hasarın şiddetini belirlemede kullanılmaktadır (11, 12). Organizmada serbest radikallerin oluşturduğu hasarı ve/veya lipid peroksidasyonunu önlemek amacıyla görev yapan savunma sistemi antioksidan savunma sistemi (katalaz, glutatyon peroksidaz, E vitamini vb) olarak adlandırılmaktadır (13).

Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz enziminin katalizlediği reaksiyonla L-arjininden sentezlenen bir moleküldür. Birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte rol oynayan önemli bir radikaldır (14). Nörotransmisyon, kan basıncının düzenlenmesi ve immun regulasyon gibi fonksiyonlara sahiptir (15). Yangı doğurucu özelliğe sahip olmakla beraber birçok organ ve doku için oldukça zararlı olan peroksinitrite dönüşen (16) NO, bakteri (17),

Yazışma Adresi Correspondence

Kadir BOZUKLUHAN
Kafkas Üniversitesi,
Kars Meslek Yüksekokulu,
Kars - TÜRKİYE

kbozukluhan@hotmail.com

virus (18) ve parazite (19) karşı savunmada oldukça önemli bir moleküldür. Organizmada stres, kronik hastalıklar, enfeksiyon ve sindirim bozukluğu gibi durumlarda serbest radikal miktarı artmakta dolayısıyla doku hasarı ve yangı oluşmaktadır.

Bu çalışmada da buzağılarda neonatal dönemde sık görülen göbek yangılarında (omfalitis) oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada hayvan materyali olarak 1-2 aylık yaşta, farklı cinsiyette 20 adet (16 erkek, 4 dişi) omfalitisli ve 10 adet sağlıklı (kontrol, 7 erkek, 3 dişi) olmak üzere toplam 30 adet montafon ırkı buzağı kullanılmıştır. Anamnez, klinik bulgular (göbek bölgesinde şişlik, sıcaklık, ağrı, ateş, iştahsızlık vb.) ve operasyon bulgularına (kordonda kalınlaşma ve cranio-dorsal yönde uzama vb.) göre göbek bölgesi lezyonlarının tipi belirlenmiştir.

Operasyon öncesi hayvanların *V. jugularis*'inden alınan kan örneklerinden bir miktarı antikoagulanlı (EDTA) tam kan olarak ayrıldıktan sonra, geriye kalan antikoagulanlı tüplere alınan örnekler ise 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları elde edildi. Tam kan GSH düzeyinin ölçümü aynı gün yapılırken, serumlar ise analizler yapılncaya kadar -20 °C'de saklandı. Tam kanda GSH analizi Beutler ve ark. (20), serumda MDA Yoshio ve ark. (21), NO ise Miranda ve ark. (22)'nin bildirdikleri metotlara göre spektrofotometrik (UV-1201, Shimadzu, Japan) olarak yapılmıştır.

Çalışma verilerinin değerlendirilmesinde SPSS for Windows 16.2 kullanılmıştır. Analizlerde grupların normal dağılım gösterme durumu Kolmogorov-Smirnov testi yapılarak değerlendirilmiştir. Gruplar normal dağılım gösterdiği için, grupların karşılaştırılmasında Student's t-testi kullanılmıştır.

Bulgular

Yapılan analiz sonucunda göbek yangılı buzağılar ile kontrol grubundaki hayvanlar karşılaştırıldığında MDA ($P<0.01$) ve NO ($P<0.05$) değerlerinin kontrol grubuna göre yükseldiği, GSH değerinin ($P<0.05$) ise kontrol grubuna göre düştüğü belirlendi (Tablo1).

Tartışma

Organizmada oluşan doku hasarı, yangı ve enfeksiyonlar; monosit ve makrofaj gibi fagositik aktiviteye sahip birçok hücreyi aktive eder (7, 23). Konak savunmasında önemli bir rolü olan fagositik hücreler bu işlevi yaparken, aşırı oksijen tüketimine bağlı olarak (hidrojen peroksit, süper oksit anyonu gibi) serbest radikaller oluştururlar. Yapılan literatür taramalarında omfalitisli buzağılarda oksidatif stres ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılamamış olduğundan diğer benzer yangısal hastalıklarla karşılaştırma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda brusella (24), koyunlarda çiçek hastalığı (25), travmatik retikulooperitonitis (26), peritonitis (27), osteoarthritis (28) ve tüberküloz (29) gibi bakteriyel/viral hastalıklarda oksidan-antioksidan dengenin bozulduğu ve oksidatif stres olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da yukarıdaki çalışmalara paralel olarak oksidan-antioksidan dengenin bozulduğu ve sonuç olarak kontrol grubu ile omfalitisli grup karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonunun arttığı, antioksidan aktivitenin ise düştüğü belirlenmiştir. Bunun sebebi olarak da; omfalitisli hayvanlarda oluşan stres ve/veya konak savunmasında önemli role sahip olan fagositlerin oluşturduğu serbest radikallerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bakteriyel enfeksiyonlarda makrofajlar tarafından üretilen NO patojen mikroorganizmalarda ATP üretiminden sorumlu olan enzimleri inhibe ederek antibakteriyel özellik göstermektedir (10). Yapılan çalışmalarda sığırlarda şap (30), brusella (24), travmatik retikulooperitonitiste (26) NO düzeyini arttırdığı bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada da omfalitisli buzağılarda kontrol grubuna göre NO düzeyi artmış olup, muhtemelen kordonda üreyen bakterilere karşı organizmayı savunan makrofajların NO sentezini uyarması sonucu olabilir.

Sonuç olarak omfalitisli buzağılarda oksidan ve antioksidan dengenin bozulduğu ve serbest radikallerin artışına bağlı olarak oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu geliştiği saptanmıştır. Buzağılara ilave antioksidan verilmesinin hastalığın iyileşmesinde ve tedavi masraflarının azaltılması yönünde katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Tablo 1. Omfalitisli ve klinik olarak sağlıklı buzağılarda MDA, GSH ve NO düzeyleri

Parametreler	Kontrol grubu (n= 10)	Omfalitisli Buzağı (n= 20)	P
MDA (µmol/g)	0.21±0.04	0.29±0.05	*
GSH (mg/g)	0.33±0.06	0.24±0.04	*
NO (µmol/L)	27.58±5.31	43.50±12.38	**

* : $P<0.01$,

** : $P<0.05$

Kaynaklar

- Edward B. Umbilical hernias and infecions in calves. In practice 1992; 14: 163-170.
- Samsar E, Akın F. Özel Cerrahi. Ankara: Tamer Matbaacılık, 1998.
- Özaydın İ, Kılıç E, Özba B, Cihan M. Erkek buzağlarda umbilikal lezyonların (umbilikal hernia, urakus fistülü, omfaloilebitis ve omfaloarteritis) operatif sağlığını için yeni bir teknik. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 1998; 4: 55-61.
- Rings DM. Umbilical hernias, umbilical abscesses, and urachal fistulas: Surgical considerations. Vet Clin North Am Food Anim Pract 1995; 11: 137-148.
- Elma E, Alkan F. Buzağlarda umbilikal lezyonların ultrasonografi ile tanısı. Vet Cerrahi Derg 1998; 4: 87-91.
- Tabakoğlu E, Durgut R. Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. AVKAE Derg 2013; 3: 69-75.
- Sezer K, Keskin M. Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2014; 28: 149-156.
- Gutteridge JMC. Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. Free Radic Res Commun 1993; 19: 141-158.
- Katz D, Mazor D, Dvilansky A, Meyerstein N. Effects of radiation on red cell membrane and intarcelluler oxidative defense systems. Free Radic Res 1996; 24: 199-204.
- Akaike T, Suga M, Maeda H. Free radicals in viral pathogenesis. Molecular mechanisms involving superoxide and NO. Proc Soc Biol Med 1998; 217: 64-73.
- Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengelyi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim 1998; 11: 336-341.
- Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini MD. Oxidative status and malondialdehyde in β thalassaemia patients. Eur J Clin Invest 2002; 32: 55-61.
- Özkurt G, Gökçen A, Çamkereten İ, ve ark. Doğal enfekte nematotlu Kilis keçilerinde Eritrosit SOD, CAT, GPx, enzim aktiviteleri ve MDA düzeyi. Harran Üniv Vet Fak Derg 2012; 1: 107-110.
- Marletta MA. Mammalian synthesis of nitrite, nitrate, nitric oxide, and N-nitrosating agents. Chem Res Toxicol 1988; 1: 249-257.
- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem 1995; 41: 1819-1828.
- Petermann H, Vogl S, Schulze E, Dargel R. Chronic liver injury alters basal and stimulated nitric oxide production and 3H-thymidine incorporation in cultured sinusoidal endothelial liver cells from rats. J Hepatol 1999; 31: 284-292.
- Degroote MA, Fang FC. Antimicrobial properties of nitric oxide. In: Frang FC. (Editör). Nitric Oxide and Infection. NewYork: Kluwer Academic/Plenum. 1999: 231-261.
- Kreil TR, Eibl MM. Nitric oxide and viral infection: No antiviral activity against a flavivirus in vitro, and evidence for contribution to pathogenesis in experimental infection in vivo. Virology 1996; 219: 304-306.
- Vespa GN, Cunha FQ, Silva JD. Nitric oxide is involved in control of *Trypanosoma cruzi*-induced parasitemia and directly kills the parasite in vitro. Infection and Immunity 1994; 62: 5177-5182.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med 1963; 61: 882-888.
- Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol 1979; 135: 372-376.
- Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitric Oxide 2001; 5: 62-71.
- Tokoyuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. Pathol Int 1999; 49: 91-102.
- Nisbet C, Yarım GF, Çiftci A, Çenesiz S, Çiftci G. Investigation of serum nitric oxide and malondialdehyde levels in cattle infected with *Brucella abortus*. Vet J Ankara Univ 2007; 54: 159-163.
- İssi M, Gul Y, Yılmaz S. Clinical haematological and antioxidant status in naturally poxvirus infected sheep. Rev Med Vet 2008; 159: 54-58.
- Atakisi E, Bozukluhan K, Atakisi O, Gokce HI. Total oxidant and antioxidant capacities and nitric oxide levels in cattle with traumatic reticuloperitonitis. Vet Rec 2010; 167: 908-909.
- Duranay M, Yılmaz FM, Yılmaz G, et al. Association between nitric oxide and oxidative stres in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients peritonitis. Scand J Clin Lab Invest 2007; 67: 654-660.
- Surapaneni KM Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamine E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. Indian J Med Sci 2007; 61: 9-14.
- Madebo T, Lindtjorn B, Aukrust P, Berge RK. Circulating antioxidants and lipid peroxidation products in untreated tuberculosis patients in Ethiopia. Am J Clin Nutr 2003; 78: 117-122.
- Bozukluhan K, Atakisi E, Atakisi O. Nitric oxide levels, total antioxidant and oxidant and capacity in cattle with foot-and-mouth-disease. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2013; 19: 179-181.