



Diagnostic Importance of Methylmalonic Acid and Vitamin B₁₂ in Cattle with Simple Indigestion

Vedat BALDAZ^{1,*} Abdullah KAYA²

¹ Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Siirt, Turkey

² Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Van, Turkey

Received: 11.02.2021

Accepted: 14.03.2021

ABSTRACT

In this study, it is aimed to reveal the diagnostic importance of methylmalonic acid (MMA) and vitamin B₁₂ in cattle with simple indigestion. For this purpose, a total of 50 different breeds and ages of cattle, 10 healthy (control group) and 40 with simple indigestion, were used. Cattle with indigestion were determined according to the anamnesis, clinical and rumen content examination findings. Blood serum samples and rumen contents were taken from each cattle to determine the levels of MMA and vitamin B₁₂. It was determined that the amount of methylmalonic acid in the group with indigestion increased compared to the control group (P<0.05). When compared with the control group, vitamin B₁₂ level decreased in the indigestion group, but this decrease was not statistically significant (P>0.05). A negative correlation was found between MMA and vitamin B₁₂ in both simple indigestion and control groups. As a result, determination of methylmalonic acid and vitamin B₁₂ levels in cattle with simple indigestion was found to be important in terms of diagnosis.

Keywords: Cattle, Methylmalonic acid, Simple Indigestion, Vitamin B₁₂

ÖZ

Basit İndigesyonlu Sığırlarda Serum Metilmalonik Asit ve B₁₂ Vitamini Düzeylerinin Tanısal Önemi

Bu çalışmada, basit indigesyonlu sığırlarda metilmalonik asit (MMA) ve B₁₂ vitamininin tanısal açıdan öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla 10 sağlıklı (kontrol grubu) ve 40 basit indigesyonlu olmak üzere toplam 50 farklı ırk ve yaşta sığır kullanıldı. İndigesyonlu sığırlar anamnez, klinik ve rumen içeriği muayene bulgularına göre tespit edildi. Her sığırdan MMA ve B₁₂ vitamin düzeylerini saptamak için kan serum örnekleri ve rumen içerikleri alındı. İndigesyonlu gruptaki MMA miktarının kontrol grubuna göre arttığı (P<0.05) belirlendi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında basit indigesyon grubunda vitamin B₁₂ düzeyinin azaldığı, fakat bu azalmanın istatistiki olarak (P>0.05) anlamlı olmadığı görüldü. Hem basit indigesyonlu hem de kontrol grubunda MMA ve vitamin B₁₂ arasında negatif bir korelasyon olduğu saptandı. Sonuç olarak; basit indigesyonlu sığırlarda MMA ve vitamin B₁₂ düzeylerinin belirlenmesi tanısal açıdan önemli olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Basit indigesyon, Metilmalonik asit, Sığır, Vitamin B₁₂

GİRİŞ

Basit indigesyon, beslemede kullanılan yemin kalitesi, miktarı ve içeriğinde ani değişim, düzensiz yemleme, yem kalitesindeki bozulma ve diğer faktörlere bağlı ön mide motilitesi veya fermentatif aktivitesinde gözlenen küçük çaplı anormalliklerdir (Garry 2009; Constable 2010). Ön midelerde başlangıçta anormal bir fermentasyon olmaksızın birçok biyokimyasal faaliyet aksar, hatta tamamen durur. Yani ön midelerdeki total biyolojik aktivite düşer. Basit ön mide disfonksiyonu, ruminantların en

çok görülen hastalığıdır. Öncelikle yemleme hatalarına bağlı olarak oluşan ve genellikle subklinik seyreden bu hastalığa kalitatif ve kantitatif açlık çeken hayvanlarda rastlanır (Gül 2012).

Ruminantlarda her türlü beslemede, o rasyonun terkiimine uygun bir ön mide mikroflorasına ihtiyaç vardır. Rasyon değişikliğinde ön mide mikroflorasının yeni duruma adaptasyonu için yaklaşık 10-14 güne ihtiyaç vardır. Bu nedenle rasyondaki ani değişiklikler önemli sindirim bozukluklarına yol açmaktadır (Gül 2012).

Yüksek veya düşük kaliteli yeme ani geçişler,



konsantre yemden yeşil mera beslemelerine veya tam tersine ani geçişlerde yaygın olarak gözlenir (Radostits ve ark. 2007; Constable 2010). Donmuş, bozulmuş, aşırı ısınmış, çürük veya küflü buğday, yem, saman, sorgum koçanı ve silaj gibi besin maddelerin kullanılması, aminleri (histamin, tryptamin vb.) içeren albümince zengin silajların (mısır, yonca, şeker pancarı posası vb.) verilmesi, büyük miktarlarda ıslak ot alımı, rasyona üre ilavesine ani geçiş, rumen florasını olumsuz yönde etkileyen uzun süreli veya yoğun oral antibiyotik, sülfonamid ve antiseptiklerin kullanımı, besi sığırlarında monensin sodyum ihtiva eden rasyonlara ani geçiş, süt inekleri için hazırlanmış olan linkomisine (%0.005 mg/kg) kontamine konsantre rasyonlar ve koruyucu kimyasallar içeren yemlerin kullanımı hastalığın oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Aytuğ ve ark. 1991; Smith 2009; Foster 2013; Altuğ 2014).

Yemlemedeki anormalliğe bağlı primer atoni oluşumunun mekanizmasını açıklamak zordur. Ancak, aşırı tane yem alımı, yüksek proteinli yemlerin aşırı tüketimi veya protein kokuşması ve bozuk gıdalarla beslenmeye bağlı içeriğin pH'sındaki küçük veya belirgin değişiklikler (asidite veya alkalite artışı), sindirilemeyen gıdanın birikimine bağlı fiziksel etkiler, rumende değişen şartlara bağlı (aşırı tane yem alımı, proteince zengin yemlerin kokuşması gibi) üretilen toksik aminler (histamin vb.) ve amidlerin üretimi, rumenin motilitesini baskılayarak veya engelleyerek ruminal atoniye neden olabilir (Aytuğ ve ark. 1991; George ve ark. 2006; Radostits ve ark. 2007).

Ruminantlarda normal şartlarda kobalamin yetersizliği genellikle söz konusu olmayabilir. Ancak mide tembelliklerinde, bozulmuş sindirim veya yetersiz beslenme ve bağırsaklara bağlı malabsorbsiyonlarda B₁₂ vitamini eksikliği görülmektedir (İmren ve Şahal 1991). B₁₂ vitaminini sentezleyebilen hayvanların ön midelerinde, oluşumdan sorumlu bakterilerin yetersizliği veya mideden İntrinsik faktör salgınmasındaki aksaklıklar da B₁₂ vitamin yetersizliğinin başlıca nedenidir (Altınsoy 2001).

Basit indigesyonlarda rumen mikroflorasının inaktivitesi nedeniyle B vitaminleri yetersizliği oluşur. Çünkü rumen mikroorganizmaları vücutta birçok önemli metabolik reaksiyonlar için konak hayvana gerekli olan B vitamini sağlarlar (George ve ark. 2006).

Kobalamin olarak da bilinen B₁₂ vitamini, yalnızca mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, eritrositlerin olgunlaşması için ihtiyaç duyulan ve suda eriyen bir hematopoietik vitamindir (Smith et al 1952). Daha önceleri ekstrinsik faktör veya antipernisöz faktör olarak yaptığı etkisi ile biliniyordu. Mikrogram ile ölçülecek çok ufak miktarları ile etki yapar. Homosisteini metiyonine dönüştüren kritik metil transfer reaksiyonu ve L-metilmalonil-KoA'yı süksinil-KoA'ya dönüştüren özel

bir reaksiyon için koenzim olarak fonksiyon görür (Bingöl 1997; Şenes 2013).

Vitamin B₁₂ eksikliğinde, adenoilkobalaminin metilmalonil-KoA mutazın kofaktörü olması nedeniyle, kanda MMA birikmesine neden olur. Vitamin B₁₂ eksikliğinde serum vitamin B₁₂ düzeylerindeki azalma ölçülebilir hale gelmeden önce serum ve idrar MMA konsantrasyonlarında artış meydana gelir. Bu nedenle MMA, doku düzeyindeki vitamin B₁₂ eksikliğini göstermesi açısından son derece önemli bir tanısal belirteçdir (Gebarski ve ark. 1983; Şenes 2013).

MMA, molekül ağırlığı düşük (118 g/mol), doymuş, oldukça polar, plazma proteinlerine bağlanmayan ve kısa zincirli bir dikarboksilik asittir. Hücre içi öncü maddesi olan D-metilmalonil-KoA, birkaç amino asit (valin, izolösin, metiyonin, treonin), tek zincirli yağ asidi, kolesterol ve timidin gibi metabolik yolların kesişme noktasıdır. İzomerleştirme, kofaktör olarak adenoilkobalamin gerektiren metilmalonil-KoA mutaz enzimi tarafından katalize edilir (Schneede ve Ueland 1993).

Metilmalonik asit, metilmalonik asidemi (görülme sıklığı 1:48 000 canlı doğum) olarak bilinen bir grup kalıtsal hastalık için özgül tanı koydurucu bir belirteçdir (Şenes 2013). Metilmalonik asideminin sonradan kazanılan nedenleri (vitamin B₁₂ eksikliğine bağlı komplikasyonlar) ise daha sık görülür. Plazma ve idrarda artmış MMA, mide atonisi, bağırsaklara bağlı malabsorbsiyon, bozulmuş sindirim veya yetersiz beslenmeye bağlı vitamin B₁₂ eksikliklerinde görülür. Aynı zamanda renal yetmezlik, hipovolemi ve ince bağırsakta aşırı bakteri çoğalması da vücut sıvılarında MMA düzeyinin artmasına sebep olmaktadır (Magera ve ark. 2000; Şenes 2013).

Metilmalonil-KoA mutaz'ın kofaktör olarak adenoilkobalamin ihtiyacı nedeniyle, kobalamin metabolizmasındaki bozukluklarda hücre dışı MMA seviyesi idrarda ve plazmada artış gösterir (İspir 2012). Bu artış nedeniyle MMA tayini, B₁₂ vitamininin eksikliğinde öncelikli tercih edilen fonksiyonel göstergesidir (Akış 2012).

İndigesyonlarda tanı amacıyla birçok biyokimyasal parametre çalışılmıştır. İndigesyonların şiddeti ve süresi ile ilişkili çalışmalara ihtiyaç vardır. Metilmalonik asit, mide tembellikleri, bağırsaklara bağlı malabsorbsiyon, bozulmuş sindirim veya yetersiz beslenmeye bağlı vitamin B₁₂ eksikliklerinde serum, plazma ve idrarda düzeyi artar (Gebarski ve ark. 1983; Elin ve Winter 2001). Bu çalışma ile ilk defa basit indigesyonlu sığırlarda rumen atonisine bağlı MMA ve B₁₂ vitamin düzeylerinin değişimleri ve tanıdaki öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın hayvan materyalini, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniğine hastalık şüphesi ile getirilen ve yapılan

muayeneler sonucunda basit indigestiyon teşhisi konulan 2-7 yaşında, farklı ırk ve cinsiyete sahip 40 sığır hasta grubunu oluşturdu. Vatandaşların elinde bulunan ve yapılan muayene sonucunda sağlıklı olduğu belirlenen 10 adet sığır kontrol grubunu oluşturdu. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 27.04.2017 tarih ve 2017/04 sayılı yazısı ile bu çalışmanın etik kurul onay belgesine gerek olmadığı belirtilmiştir.

Kliniğe getirilen ve Basit İndigestiyon ön tanısı konulan sığırlardan tanı amacıyla içerik sondası ile rumen içeriği ve biyokimyasal parametrelerin analizi için antikoagülsiz tüplere (Hema&Tube®) vena jugularisten prosedürüne uygun kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri santrifüj cihazında (Rotofix32®-Hettich) 3500 devirde 10 dk. santrifüj edilerek serum örnekleri çıkarıldı. Elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizleri yapılmaya kadar serum saklama tüplerinde (Eppendorf) derin dondurucuda -20 C°'de muhafaza edildi.

Anamnezle belirlenen hasta sığırlardan rumen içeriği sondasıyla usulüne uygun alınan rumen içeriğinin rengi, kokusu, kıvamı ve pH'sına bakıldı ve kayıt altına alındı. Mikrobiyal fauna hareketleri (canlılık, hareket, yoğunluk) için mikroskopta bakılıp kayıt altına alındı. Metilmalonik Asit analizi (Bovine Methylmalonic Acid ELISA Kit kullanılarak) test kitlerinin prosedüründe belirtildiği şekilde ölçümleri ELISA yöntemiyle (ELISA Reader®-DAS) yapıldı.

B₁₂ vitamini için serum örnekleri toplu olarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Hastanesi, Merkez Biyokimya Laboratuvarı Hormon biriminde (Architect Ci 16200® Abbott) kimyasal immün analiz yöntemi ile ölçüldü.

İstatistik Analizleri

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değer olarak ifade edildi. Bu özellikler bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada Student t testi kullanıldı. Özellikler arasındaki ilişkiyi belirlemede gruplarda ayrı ayrı olmak üzere Pearson korelasyon katsayıları hesaplandı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5

olarak alındı. Tüm hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Klinik Bulgular

Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Kliniğine getirilen sığırlar, sistemik olarak klinik yönden muayene edildi. Süt veriminde düşüş, 3 günden bir haftaya kadar değişen sürede yem ve su tüketiminin az veya hiç olmadığı, halsizlik, genel durum bozukluğu, tüylerde karışıklık, rumende atoni ve bazı olgularda da ishal saptandı.

Hasta hayvanların yapılan klinik muayenelerinde vücut ısısı ve nabız frekansının pek değişmediği, rumen hareketlerinin önemli derece azaldığı ve rumen kontraksiyon gücünde de düşüş olduğu görüldü. İçerik sondasıyla alınan rumen sıvılarının muayenesinde pH değerinin 6.0-8.0 aralığında olduğu görülmüştür. İçeriğin kıvamı genel olarak viskozdan suluya kadar değişkenlik göstermektedir. Alınan taze rumen içeriğinin rengi çoğunlukla kahverengi bazen de yeşilimsi ve sarımsı olduğu gözlemlenmiştir. Rumen içeriğinin kokusu ise daha çok keskin ekşimsi, bazılarında ise fena bir koku ve küf kokusu olduğu görülmüştür. İnfusoriaların durumu, yoğunluk, canlılık ve hareketlerine bakılarak (+, -) şeklinde değerlendirildi. Genellikle yoğunlukları orta derecede veya daha az, hareketleri ise az veya hiç yoktu, canlılık da genellikle negatif olarak saptandı. İnfusorialar hareket açısından yapılan değerlendirmede (+/-) olarak saptandı.

Kontrol grubu sığırlarda da rumen hareket sayıları, rumen kontraksiyon gücü, nabız frekansı ve vücut ısısı gibi değerler ölçülmüş, bulguların referans sınırları içinde olduğu görülmüştür.

Kontrol grubu sığırların rumen sıvısının pH değeri, 6.0-7.0 aralığında ölçülmüştür. Rumen içeriği viskoz kıvamında olup rengi ise genellikle yeşilimsi ve kahverengimsi görünümündedir. Rumen içeriğinin kokusu ise normal olup aromatik bir koku özelliğine sahiptir. İnfusoriaların durumunu tespit etmek için taze olarak alınan rumen içeriğine mikroskopta bakıldı; hepsinde infusorialar canlı, hareketli ve yoğunlukları yeterli (+++) derecede olduğu gözlemlendi.

Tablo 1. Basit indigestiyonlu ve kontrol grubu sığırlarda serum MMA ve vitamin B₁₂ değerleri.

Table 1. Serum MMA and vitamin B₁₂ values in cattle with simple indigestion and control group

| Parametreler | Kontrol grubu (n=10) | | Basit indigestiyon grubu (n=40) | | P değeri |
|---------------------------------|----------------------|-------------------|---------------------------------|--------------------|----------------|
| | (Xmin-Xmax) | Ortalama (X±S x̄) | (Xmin-Xmax) | Ortalama (X̄±S x̄) | |
| Metilmalonik asit (µmol/L) | 17.64-76.65 | 45.89±5.65 | 8.08-190.85 | 75.99±5.86 | .017 P<0.05 |
| Vitamin B ₁₂ (pg/ml) | 142-264 | 207.20±13.51 | 83-281 | 199.02±7.96 | .639 P>0.05 |

Laboratuvar Bulguları

Çalışmada basit indigestiyonlu ve kontrol grubu sığırların MMA ve vitamin B₁₂ düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir.

İndigestiyonlu grupta MMA düzeyleri (75.99±5.86), kontrol grubu MMA düzeylerine (45.89±5.65) göre yaklaşık %66 arttığı tespit edilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (P<0.05). İndigestiyonlu grupta vitamin B₁₂ düzeyleri (199.02±7.96), kontrol grubuna (207.20±13.51) göre azalmasına rağmen istatistiksel açıdan önemsiz (P>0.05) bulunmuştur.

Kontrol gruplarındaki vitamin B₁₂ normal değerlerde ölçülürken MMA ise daha düşük olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre MMA ve vitamin B₁₂ arasında negatif bir korelasyonun (-.248) olduğu tespit edilmiştir.

İndigestiyon grubundaki sığırlarda vitamin B₁₂ düzeyi azalırken MMA seviyesinin ise kontrol grubuna göre yaklaşık %66 daha fazla arttığı tespit edildi. Metilmalonik asit ile vitamin B₁₂ düzeyleri arasında negatif bir korelasyon (-.168) olduğu görüldü.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyada hayvansal gıda üretiminde çok önemli bir yere sahip olan sığırlar insanlar tarafından doğrudan değerlendirilme imkanı olmayan kaba ve selülozca zengin yemleri hayvansal proteine dönüştürme kapasitesine sahiptir. Ruminantlarda sindirim sisteminin sağlıklı çalışması ile verim arasında pozitif bir korelasyon vardır (Başoğlu 1998). Ön mide hastalıkları, sığırların sindirim

sistemi hastalıkları içerisinde önemli bir yere sahiptir (İmren 1978; Garry 2009; Dabak 2009).

Şimşek ve Kaya'nın (2006), Van ili ve çevresinde 2000-2003 yılları arasında görülen hastalıkların insidansının belirlenmesi için yaptıkları bir çalışmada, sindirim sistemi hastalıkları %16.09, dolaşım sistemi hastalıkları %1.32, üriner sistem hastalıkları %0.66, solunum sistemi hastalıkları %10.66, sinir sistemi hastalıkları %0.36, deri hastalıkları %0.69 oranında olduğunu bildirmişlerdir.

Sekin ve ark. (1996), 1992-1997 yılları arasında Van ve çevresinde sığır hastalıkları insidansının belirlenmesi için yaptıkları bir çalışmada; hastalıkların yerleştikleri sistemlere göre Van Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Kliniğine getirilen hayvanlarda en çok sindirim sistemi (%57.1) ve en az üriner sistem (%0.8) hastalıkları tanısı konulduğunu saptamışlardır. Sindirim sistemi hastalıkları içinde ön mide hastalıkları (%39.6) önemli bir yer tutmakta olduğunu, indigestyonların bu sindirim sistemi hastalıklarının %28.3'ünü oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Basit indigestyon; genellikle rasyona kalitatif ya da kantitatif bir değişime bağlı olarak ortaya çıkan, hem besi hem de süt sığırcılığında yaygın olarak gözlenen ön mide hareketlerinin ve fonksiyonlarının aksamasıdır (İmren ve Şahal 1991; Dodurka 2012). Sığırların ani yem değişikliği, yem kalitesindeki bozulma ve yemlemedeki düzensizlik sebebiyle ön midelerindeki mikrofaunanın yeni besine uyum sağlayamamasından ileri gelen ön midelerin atonisi, iştahsızlık, rumen hareketlerinin azalması, hafif bir timpani, kabızlık bazen ishale seyreden bir sindirim sistemi hastalığıdır (Aytuğ ve ark. 1991; Balıkcı ve Yılmaz 1999; Dabak 2009).

Sindirimi zor kaba yem ve beyaz saman içeren rasyonlar, ani rasyon değişiklikleri, meradan ahır veya ahırdan mera besisine hızlı geçişler, rasyonda enerji miktarının artması, tek yönlü beslenme, özellikle protein tüketimindeki yetersizlik, küflü, donmuş, kirlenmiş ve fazla miktarda tahlil içeren rasyonların tüketilmesi, doğum yapan ineklerin plasentalarının yenmesi, uzun süreli antibiyotik, sülfonamid veya dezenfektanların kullanılması ve ahırda fazla tutulma neticesinde hareketsizlik veya yem tüketiminin azalmasına neden olan bazı hastalıklar (ön mide veya abomasum disfonksiyonları ve diğer organ hastalıkları gibi) nedeniyle rumen mikroorganizmalarının adaptasyonunun bozulması sonucu meydana gelir (Balıkcı ve Yılmaz 1999; Batmaz 2010; Dodurka 2012; Gül 2012).

Yapılan bu çalışmada, hayvanlardan alınan anamnez bilgilerine göre hayvanların çoğu sadece beyaz samanla beslendiği ya da saman ve arpa ile tek yönlü bir beslenmeye tabi tutulduğu tespit edilmiştir. Bazen de ani rasyon değişikliklerinin yapıldığı, kokuşmuş bozuk yemlerin yenmesi sonucu, 2 ile 14 gün arasında bir iştahsızlığın ortaya çıktığı, hayvanda verim düşüklüğünün olması araştırmacıların (Smith 2009; Constable 2010; Batmaz 2010) sığırlarda basit indigestyon etiolojisi için bildirdikleri nedenlerle benzerlik göstermektedir. Klinik değerlendirme sonrası indigestyondan şüphelenilen sığırlarda kesin tanı koyabilmek için, rumen içerik sondasıyla usulüne uygun alınan rumen içeriğinin kıvamı çoğunlukla sulu olduğu, kokusunun ekşimsi, kokuşmuş ve küf kokusunda olduğu, renginin ise genellikle kahverengi olduğu, bazılarında ise yeşilimtıraktan sarımtırağa kadar değişkenlik arz ettiği tespit edildi. Bu çalışmadaki sığırlarda rumen içerik pH'sı 6.0-8.0 aralığında ölçülmüştür. Bu da gösteriyor ki basit indigestyonlu sığırlarda pH değeri geniş bir skalaya sahip olup normal değerden asidik veya alkalik yöne kayabilmektedir. Elde edilen bu veriler, araştırmacıların (Başoğlu 1998; Herdt

2007; Garry 2009; Gül 2012; Altuğ 2014) bildirdikleri bulgularla benzerlik göstermektedir.

İndigestyon tanısı amacıyla bakılması gereken önemli başka bir parametre de; rumen içeriği infusoriarlarının durumudur. İnfusoriarların yoğunluk, canlılık ve hareketleri incelendiğinde; infusoriarların yoğunluğunun azaldığı veya hiç bulunmadığı, canlı olanlarında hareket kabiliyetinin çok zayıf veya hiç olmadığı tespit edildi. Kontrol grubu sığırlarda ise infusoriarlar çok yoğun olup canlılık ve hareket kabiliyetlerinin yüksek olduğu görüldü. Tespit edilen bu bulgular, araştırmacıların (Garry 2009; Dabak 2009; Batmaz 2010; Altuğ 2014) bulgularıyla paralellik arz etmektedir.

Metilmalonik asit, izolösin, valin, metionin ve treonin gibi dalı zincirli aminoasitlerin katabolizmasındaki bozukluk sonucu artan, tanisal önemi olan bir parametredir. Metilmalonil-KoA'nın süksinil-KoA'ya dönüşümünde bozukluk sonucu kanda ve idrarda biriken MMA santral sinir sistemine, böbrek ve kemik iliğine toksik etki göstermektedir (Aygün ve ark. 2015). Ayrıca vitamin B₁₂ eksikliğinde metiyonin sentezinin yetersiz fonksiyonu sonucu homosistein seviyesi yükseldiği rapor edilmektedir (Graham ve O'Callaghan 2002).

Vitamin B₁₂ eksikliği gastrointestinal sistemde otonomik disfonksiyon, motilite bozuklukları, anoreksi, meteorizm, kabızlık, diyare, iştahsızlık ve nörolojik komplikasyonlara yol açar. Vücut hücrelerinde vitamin B₁₂ eksikliği nedeniyle Metilmalonil-KoA süksinil-KoA'ya dönüşemez. Bu nedenle vücut sıvılarında (serum, plazma ve idrar) MMA seviyesi artar (Wintrobe ve ark. 1981; Schneede ve Ueland 1993; Kılıçkap 2012).

L-metilmalonil-KoA'nın, kofaktör olarak adozilkobalaminin kullanıldığı metilmalonil-KoA mutaz enzimi ile izomerizasyonu ve bu reaksiyonun Folik asit metabolizmasından bağımsız olması, kobalamin eksikliğinin değerlendirilmesinde biyobelirteç olarak MMA'nın önemini artırmıştır. Serum veya plazmada ölçülen MMA konsantrasyonu sıklıkla kobalamin eksiklik belirteci olarak kullanılır. Kobalamin eksikliğinden başka MMA artışına neden olarak bilinen, birçok klinik durum vardır. Bunlar arasında ön mide tembellikleri, bozulmuş böbrek fonksiyonları, dehidrasyon durumları, kalıtsal metilmalonik asidüriler ve MMA'nın öncül molekülü olan propiyonik asit üretimine neden olan ince bağırsaktaki aşırı bakteri üremesi yer almaktadır (Bolann ve ark. 2000).

Berghoff ve ark. (2012)'ları, farklı hastalıklara (sindirim sistemi hastalıkları, böbrek yetmezliği, dolaşım hastalıkları, anemi, dehidrasyon) sahip 555 köpekte kobalamin ve MMA serum konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptıkları bir çalışmada; kontrol grubu (43 adet) köpeklerde ortalama serum metilmalonik miktarını 697.8 mmol/L, ortalama serum kobalamin konsantrasyonunu ise 539 ng/L olarak saptamışlardır. Araştırmacılar 555 köpeğe ait serum örneklerini serum kobalamin konsantrasyonlarına göre (<150 ng/L-1000 ng/L) gruplandırılmış olup, grup 1 ve 2'deki köpeklerin (sırasıyla kobalamin <150 ve <151-250 ng/L), diğer tüm köpek gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek serum metilmalonik konsantrasyonlarına (1328.0 ve 1033.0 mmol/L) sahip olduğunu (P<0.05) belirtmişlerdir. Kobalamin ve MMA arasında güçlü negatif bir korelasyonun (P<0.0001) olduğunu açıklamışlardır.

Bu çalışmada, kontrol grubu MMA miktarı en yüksek 76.65 µmol/L, en düşük 17.64 µmol/L olarak ölçülmüş olup ortalama değer 45.89±5.65 µmol/L olduğu görüldü. İndigestyonlu sığırlarda en yüksek MMA değeri 190.85 µmol/L iken en düşük değer 8.08 µmol/L olarak belirlendi

ve ortalama değerin 75.99±5.86 µmol/L olduğu ortaya konuldu. Dolayısıyla basit indigestiyonlu sığır grubunun MMA değerinin, kontrol grubundaki sığırlara göre önemli derecede yüksek olduğu tespit edildi. MMA düzeyindeki bu yükseklik, sığırdaki basit indigestiyonun erken tanısı ve B₁₂ vitamin yetersizliği için anlamlı bir bulgu olduğunu ve indigestiyonların süresi ve şiddetini belirleme açısından önemli bir tanısal belirteç olabileceğini göstermektedir. B₁₂ vitamini yetmezliğinde serum MMA düzeyinin artışı bildiren araştırmacıların (Wintrobe ve ark. 1981; Schneede ve Ueland 1993; Berghoff ve ark. 2012; Akış 2012; Şenes 2013) bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

B₁₂ vitamini ve folik asit, hematopoetik hücrelerde, gastrointestinal, ürogenital ve sinir sisteminde DNA sentezi gibi oldukça önemli metabolik olaylarda rol alırlar. Eksikliklerinde ciddi ve farklı klinik bulgular görülür ve hızlı proliferasyon alan tüm dokular etkilenirler (Altay ve Çetin 1995; Öncel ve ark. 2006).

Normal büyüme ve eritrositlerin oluşumu için esansiyel bir vitamin olan B₁₂ vitaminini, monogastrik hayvanlar dışarıdan alabilirken ruminantlar kobalt varlığında rumende bulunan bakteriler (Selemonas, Peptostreptococcus ve Butyrivibrio grubu) tarafından sentezleyebilirler (İssi ve ark. 2010). Ancak basit indigestiyonlu sığırlarda rumen mikroflorası tahrip olduğundan, vitamin B₁₂ sentezlenmesi durur (George ve ark. 2006). Dolayısıyla kanda, doku ve organlarda yetersizliğe ve ilgili fonksiyonların işlevsiz kalmalarına sebep olur.

Sağlıklı sığırların serum vitamin B₁₂ düzeyinin 155.13±19.74 pg/mL olduğu bildirilmektedir (İssi ve ark. 2010). Yapılan başka bir çalışmada (Ertaş 2015) sağlıklı sığırların serum vitamin B₁₂ değeri 193.00±7.69 pg/mL olduğunu aktarmıştır. Ayrıca, sağlıklı simental, holştayn ve montefon ırkı sığırlarda yapılan bir başka çalışmada B₁₂ vitamini düzeyleri sırasıyla 192.36±22.02, 253.50±26.73, 183.74±22.22 pg/mL olarak ölçülmüştür (Kılıçkap 2012). Yapılan bu çalışmada kontrol grubunda vitamin B₁₂ düzeyi 207.20±13.51 basit indigestiyon grubunda ise 199.02±7.96 olarak ölçüldü. İndigestiyon grubunun, kontrol grubuna göre vitamin B₁₂ düzeyinin azaldığı görüldü de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (P>0.05). Elde edilen bulgular araştırmacıların (İssi ve ark. 2010; Kılıçkap 2012; Ertaş 2015) bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda basit indigestiyonlu sığır gruplarında MMA ve vitamin B₁₂ düzeylerinin tanısal açıdan önemini ortaya konulması ve bu parametreler arasındaki korelasyon araştırıldı. Yapılan literatür taramasında, basit indigestiyonlu sığırlarda MMA ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Basit indigestiyon, sığırların sindirim sistemi tembelliklerinde serum MMA değerlerinin ortaya konulması açısından önemli ve yeni bir çalışmadır. Sığırlarda indigestiyonların süresi ve şiddetinin ortaya konması açısından bu parametrenin tanısal önemi değerlendirildi.

Bu çalışmada kontrol grubu sığırlar ile basit indigestiyonlu sığırlar arasında MMA düzeyleri arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak (P<0.05) önemli bulundu.

Basit indigestiyonlu sığırlarda MMA ve B₁₂ vitamin düzeyleri arasında 0.017 oranında negatif bir korelasyon olduğu saptandı.

Serum B₁₂ vitamin düzeyinin ölçülmesi, serumdaki B₁₂ vitamini miktarının bir göstergesi olmasına karşın, B₁₂ vitamininin metabolik fonksiyonları hakkında bilgi vermemektedir. Oysa B₁₂ vitamin eksikliğinde görülen, serum MMA ve homosistein yükseklikleri, B₁₂ vitamininin

fonksiyonel eksiklik belirteçlerindedir (Henk ve ark. 2007). B₁₂ vitamin eksikliğinin fonksiyonel belirteçleri olan MMA ve homosistein ise yetersiz B₁₂ vitamin konsantrasyonlarında birikmekte ve klinik belirti göstermeyen erken değişiklikleri yansıtmaktadır (Yetley ve ark. 2011). Ancak, homosistein B₁₂ vitamin eksikliği dışında folik asit ve B₆ vitamin eksikliklerinden de etkilenmesi nedeniyle MMA'ya göre daha az özgül bir metabolik biyobelirteçtir (Klee 2000; Akış 2012). Dolayısıyla B₁₂ vitamin eksikliği tanısının konulmasında, bu testin de kullanılması, tanıdaki hataları azaltacağını düşünmekteyiz. Bu nedenle beşeri hekimlikte, serum veya idrar MMA düzeyleri ile homosistein düzeylerinin ölçümüne yönelik metotlar geliştirilmiştir. Dolaşımdaki MMA düzeyleri, kan B₁₂ vitamini konsantrasyonu düşük olan insanlarda yararlı bir doğrulayıcı tanı testi olarak kabul edilmektedir. 20 yıldan daha fazla bir süredir serum/plazma ve idrarda MMA ölçümü B₁₂ vitamin eksikliğinin bir belirteci olarak kullanılmaktadır (Lakso ve ark. 2008).

Ancak, MMA veteriner hekimlik alanında tanısal amaçla kullanılması henüz çok yenidir. Veteriner hekimlik alanında MMA ilgili literatür bulmakta ciddi zorluklar vardır. Bu konu daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Elde edilen verilere göre; basit indigestiyonlu sığırların tanısında metilmalonik asidin biyobelirteç olarak kullanılabilirliğinin önemli olduğu saptandı. İndigestiyonlu sığırlarda MMA ile B₁₂ vitamin yetersizliği arasında negatif bir korelasyonun olduğu belirlendi. Serum B₁₂ vitamin düzeyleri azalırken, MMA düzeylerinin arttığı gözlemlendi. Serum MMA düzeyi stabilitesinin daha uzun sürmesi ve özellikle de subklinik B₁₂ vitamin yetmezliği tanısında uygulanabilirliği, parametre açısından önemli bir avantaj olarak görülmektedir. Metilmalonik asit ölçümü, vitamin B₁₂ konsantrasyonu ölçümüne göre tanısal doğruluğu daha yüksek ve iyi bir belirteçtir. Kontrol grubunda bulunan sağlıklı sığırlarda serum MMA düzeyleri ortalama 45.89±5.65 olarak belirlendi. Sığırlardaki indigestiyonların şiddeti ve süresini ortaya koymak için vitamin B₁₂ yetmezliğine ilaveten serum metilmalonik asit düzeylerinin de tanısal öneme sahip olduğu ortaya konuldu.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Başkanlığı tarafından TYL-2017-6163 nolu proje olarak desteklenmiştir. 13. Ulusal 2. Uluslararası Veteriner İç Hastalıkları Kongresinde sözlü olarak sunulmuş, kongre kitabına özet metin olarak basılmıştır.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: VB, AK

Tasarım: VB, AK

Denetleme/Danışmanlık: VB, AK

Veri Toplama ve/veya İşleme: VB, AK

Analiz ve/veya Yorum: VB, AK

Kaynak Taraması: VB, AK

Makalenin Yazımı: VB, AK

Eleştirel İnceleme: VB, AK

KAYNAKLAR

- Akış M (2012).** Sağlıklı ve fenilketonüri çocuklarda fonksiyonel B₁₂ vitamin eksikliğinin plazma metilmalonik asit ve homosistein düzeyleri ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Altay Ç, Çetin M (1995).** Megaloblastik anemiler. *Katki Pediatri Dergisi*, 3, 346-362.
- Altınsoy Ç (2001).** Akkaraman koyunlarda B12 vitamini ve folik asit düzeyleri ile bazı hematolojik ve biyokimyasal değerler arasındaki ilişki. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 48, 141-145.
- Altuğ N (2014).** Sığırlarda basit indigestyon. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 5(3), 7-14.
- Aygün F, Zübarioğlu T, Aygün D, Zeybek ÇA, Çam H (2015).** Geç tanı alan metilmalonik asidemi vakası. *Çocuk Dergisi*, 15(1), 38-40.
- Aytuğ CN, Alaçam E, Görgül S, Gökçen H, Tuncer ŞD, Yılmaz K (1991).** Sığır Hastalıkları. Genişletilmiş 2. Baskı, Tüm Vet Hayvan Hizmetleri (Yay No:3), İstanbul.
- Balıkçı E, Yılmaz K (1999).** Investigations on the importance of blood electrolytes (Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺, Inorganic P and Mg⁺⁺) and electrocardiogram findings in diagnosis and prognosis of some forestomach diseases in cattle. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 13(3), 349-58.
- Başoğlu A (1998).** Veteriner İç Hastalıklarında Klinik Muayene. Bahçıvanlar Basım, Konya.
- Batmaz H (2010).** Sığırlarda İç Hastalıkları, Semptomdan Tanıya, Tanıdan Sağaltıma. Genişletilmiş 2. Baskı, F Özsan Matbaacılık, Bursa.
- Berghoff N, Suchodolski JS, Steiner JM (2012).** Association between serum cobalamin and methylmalonic acid concentrations in dogs. *The Veterinary Journal*, 191, 306-311.
- Bingöl G (1997).** Vitaminler ve enzimler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi yayınları, Ankara.
- Bolann BJ, Solli JD, Schneid J, et al. (2000).** Evaluation of indicators of cobalamin deficiency defined as cobalamin-induced reduction in increased serum methylmalonic acid. *Clin Chem*, 46(11), 1744-1750.
- Constable PD (2010).** Simple Indigestion In: The Merck Veterinary Manual, Kahn CM, Line S (Ed), 199-200, Merck&Co Inc, Indiana.
- Dabak M (2009).** The investigation of methylene blue reduction time of ruminal fluid in some forestomach diseases of cattle. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 23(1), 53-55.
- Dodurka T (2012).** Sindirim Sistemi İç Hastalıkları. <http://cdn.istanbul.edu.tr/FileHandler2.ashx?f=sindirim-sistemi-ic-hastaliklari.pdf> Erişim Tarihi: 25.12.2017.
- Elin RJ, Winter WE (2001).** Methylmalonic acid: a test whose time has come? *Archives of pathology & laboratory medicine*, 125(6), 824.
- Ertaş F (2015).** İndigestyonlu sığırlarda bazı mineral madde ve vitamin düzeylerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Foster DM (2013).** Simple indigestion, rumen acidosis and non-infectious diarrhea in adult cattle. In: Proceedings 2013 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, New York State College of Agriculture and Life Sciences, East Syracuse, New York.
- Garry FB (2009).** Rumen İndigestion and Putrefaction, In: "Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice". Anderson DE, Rings DM (Ed), 20-21, Saunders&Elsevier, Missouri, ABD.
- Gebarski SS, Gabrielsen TO, Knake JE, Latack JT (1983).** Cerebral CT findings in methylmalonic and propionic acidemias. *Am J Neuroradiol*, 4, 955-957.
- George SK, Dipu MT, Mehra UR, Singh P, Verma AK, Thomas R (2006).** Efficacy of Chlorpheniramine Maleate and B-Complex Vitamins in the Clinical Management of Simple Indigestion in Crossbred Cattle. *Intas Polivet*, 7(1), 8-9.
- Graham IM, O'Callaghan P (2002).** Vitamins, homocysteine and cardiovascular risk. *Cardiovasc Drug Ther*, 16, 383-389.
- Gül Y (2012).** Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları (Sığır, Koyun-Keçi). Medipres Matbaacılık, Malatya.
- Henk J. Blom AvR, Marije, Hogeveen (2007).** A simple high-throughput method for the determination of plasma methylmalonic acid by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med*, 45(5), 645-650.
- Herdth TH (2007).** Gastrointestinal Physiology and Metabolism In: Textbook of Veterinary Physiology, Cunningham JG, Klein BG (Ed), Saunders&Elsevier, Missouri.
- İmren H.Y. (1978).** Sığırlarda Sindirim Bozukluklarında Rumen İçeriğinin Tetkiki ve Tedavideki Rolü. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- İmren HY, Şahal M (1991).** Veteriner İç Hastalıkları, 2.Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
- İspir E (2012).** Sıvı kromatografisi kütle spektrometresi ile serum metilmalonik asit tayini ve serum B12 vitamini, serum homosistein düzeyleriyle karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Gülhane Askeri Akademi Askeri Tıp Fakültesi, Ankara.
- İssi M, Gül Y, Başbuğ O, Şahin N (2010).** Tropikal theileriozisli sığırlarda klinik, hematolojik ve bazı biyokimyasal parametreler ile serum kobalt ve B₁₂ vitamin düzeyleri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(6), 909-913.
- Kılıçkap A (2012).** Sağlıklı kültür ırkları ineklerde serum homosistein düzeylerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Klee GG (2000).** Cobalamine and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocystein vs vitamin B₁₂ and folat. *Clin Chem*, 46, 1277-1283.
- Lakso HA, Appelblad P, Schneede J (2008).** Quantification of methylmalonic acid in human plasma with hydrophilic interaction liquid chromatography separation and mass spectrometric detection. *Clin Chem*, 54, 2028-2035.
- Magera MJ, Helgeson JK, Matern D, Rinaldo P (2000).** Methylmalonic acid measured in plasma and urine by stable-isotope dilution and electrospray tandem mass spectrometry. *Clin Chem*, 46, 1804-1810.
- Öncel K, Özbek MN, Onur H, Söker M, Ceylan A (2006).** Diyarbakır ilindeki çocuklarda ve adolesanlarda B₁₂ vitamin ve folik asit düzeyleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 33(3), 163-169.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD (2007).** Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Goats, Pigs and Horses, 10th Ed. Saunders&Elsevier, Philadelphia.
- Schneede J, Ueland PM (1993).** Automated assay of methylmalonic acid in serum and urine by derivatisation with 1-pyrenyldiazomethane, liquid chromatography and fluorescence detection. *Clin Chem*, 39(3) 392-399.
- Sekin S, Voyvoda H, Ağaoğlu ZT, Karaca M (1996).** The general evaluation of the diseases of the animals brought to the internal clinic of the Veterinary College in Yüzüncü Yıl University from Van and its region during 1992-1997 years. *YYU Vet Fak Derg*, 7(1-2), 106-109.
- Smith BP (2009).** Large Animal Internal Medicine, 4th Ed. Mosby-Elsevier, Missouri.
- Smith EL, Fantes KH, Ball S, Waller JG (1952).** B₁₂ vitamins (cobalamins). I. Vitamins B_{12c} and B_{12d}. *Biochem J*, 52, 389-395.
- Şeneş M (2013).** Migren ve gerilim tipi baş ağrısında vitamin B₆, vitamin B₁₂ ve folik asit eksikliğinin önemi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Şimşek A, Kaya A (2007).** Van ili ve çevresinde 2000-2003 yılları arasında görülen hastalıkların insidansı ve mevsimlere göre dağılımı üzerine araştırmalar. *YYU Vet Fak Derg*, 18(2), 59-64.
- Wintrobe MM, Lee GR, Boggs DR (1981).** Megaloblastic Anemias Disorders Of Impaired DNA Synthesis In: Clinical Hematology, 8th ed. Lea and Febiger (Ed), 559-604, Philadelphia.
- Yetley EA, Pfeiffer CM, Phinney KW, Bailey RL (2011).** Biomarkers of vitamin B₁₂ status in NHANES: a roundtable summary. *Am J Clin Nutr*, 94, 313-321.