

## GEBE KOYUNLARDA VE YENİ DOĞAN KUZULARDA KOLESTEROLÜN KAN SERUMU VE LİPOPROTEİN FRAKSİYONLARINA AİT DAĞILIMI\*

Nezir Yaşar TOKER \*\*

### The levels of cholesterin in serum of pregnant ewes and new born lambs and their assessment in lipoprotein fractions

**Summary:** In this study, sheeps and lambs; which are important for food, wool and leather source; were used to examine the levels of Cholesterin in blood and their percentage at the VLDL/LDL fractions by mother sheeps and new born lambs. New born lambs were divided in two groups (MS: mother suckling, AF: artificial feeding).

VLDL/LDL fractions were gained from serum. Cholesterin test were made in serum and VLDL/LDL fractions with the method of Enzimatic Cholesterin test method.

With these results we were established the levels of cholesterin in blood and their transfers from mother to new born lambs before and after birth. We found statistical difference between two groups (MS-AF) ( $p<0.005$ ) and between mothers ( $p<0.001$ ). Different feeding had effected the levels of of cholesterin and their percentage in VLDL/LDL fractions in the sheeps and new born lambs between two groups.

**Key word:** Cholesterin, VLDL/LDL, sheep and lamb.

**Özet:** Bu çalışmada kolesterolün kanda ve VLDL/LDL fraksiyonlarındaki dağılımını incelemek için; gıda, yün, deri ve yavru verimi açısından önemli olan; birden fazla yavrulama oranına sahip sakız melezi koyunlar ve onların kuzular kullanılmıştır. Kolesterolün analarda ve yeni doğanlardaki seviyeleri ve yavruardaki gelişmeye olan etkisi incelenmek için yavrular iki gruba ayrılmışlardır (AE: analarını emenler, YB: yapay beslenenler).

Lipoprotein fraksiyonları ile ilgili testler için 2 ml serumdan VLDL/LDL fraksiyonları elde edildi.

Kolesterol tayini serumlarda ve VLDL/LDL ekstraktlarında Enzimatik Chod-Pap Kolesterol kiti kullanılarak spektrofotometrik yöntemle yapıldı. Sonuçlardan Kolesterolün kandaki seviyeleri ve anadan yavrulara doğum öncesi ve sonrası transferi tespit edilmiştir. Gruplar (AE-YB) arasında ( $p<0.005$ ) ve anaların değerleri arasında ( $p<0.001$ ) istatistiki önem elde edilmiştir. Sonuçlar kan seviyeleri ve gruplar arası farklılık

\* İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu sekreterliğince desteklenmiştir. Proje No: 1447/05052000.

\*\* İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 34320 Avcılar – İstanbul.

gözeterek ve onların VLDL/LDL deki oranları kıyaslanmıştır ve farklı beslenmenin gruplar arasındaki farklı değerleri oluşturduğu tespit edilmiştir..

**Anahtar Kelimeler:** Kolesterol,VLDL/LDL , koyun ve kuzu.

## Giriş

Günümüz koyuncululuğunda çok yavru elde etmek en çok aranan özelliklerdendir. Kolesterol diğer türlerde olduğu gibi ruminantların dokularında ve vücut hücrelerinde ve en çok da karaciğerde (3, 4, 8, 10, 14) sentezlenerek hücre membranının yapısında görev alan ve hücre membranlarının sağlamlılığını arttıran bir komponentdir (1, 2, 5, 6). Ruminantlarda kolesterol kanda %60-80 oranında ester formda geri kalanı ise serbest formda bulunur (2, 6). Serbest radikallerle lipid peroksidasyonu ve oksidatif modifikasyon, organizmalarda verimleri etkilemektedir (4, 8, 14). Okside olmuş VLDL'ler ve LDL'ler hem sitotoksik hemde kemotoksik etki yaparlar (3, 4, 15, 16).

Cathcart ve ark. (4) serbest radikallerin birçok biyokimyasal reaksiyonların sonucu oluştuğunu ve bunların hücre membranlarının doymamış kolesterollerini, yağ asitlerini enzimlerini zarara uğrattığını bildirmişleridir

Kolesterol deride kolekalsiferole dönüşerek provitamin D<sub>3</sub>'ü oluşturur ve progesteron, östrojen sentezinde kullanılır. Kolesterolün VLDL/LDL'deki oranları endojen hidroperoksitler ve oksidan/antioksidan çalışmalar için önemlidir (8, 9, 14, 16).

Kolesterol, trigliseritler ve fosfolipidler suda çözünmezler ve dolayısıyla kanda lipoproteinlerle taşınırlar. Lipoproteinler 4 farklı gruptan oluşmaktadırlar: a) şilomikronlar b) düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) c) Çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) d) yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) (8, 9, 10, 16).

Ruminantların rasyonlarındaki yağ oranının azlığı kandaki şilomikronların miktarında az olmasına sebep olmaktadır. Az olan şilomikronlar kanda çok kısa sürede parçalandığı için tespit edilememektedirler (11, 12).

Lipoprotein fraksiyonlarındaki trigliseritlerin parçalanması sonucu oluşan yağ asitleri dokulardaki metabolik olaylar için kullanılır. Ruminantlarda kan kolesterol seviyesi; rasyon, cinsiyet, yaş, gebelik, mevsim, genetik, laktasyon, karaciğer ve safra kesesinin hastalıklarında değişmektedir (1, 2, 6, 7, 9).

Özellikle süt veren canlılarda sütün sentezi için yağ asitlerine daha çok ihtiyaç vardır ve bu ihtiyaç büyük oranda VLDL tarafından karşılanmaktadır (7, 12). Koyunlarda kolesterolün en çok hangi fraksiyonla taşındığı kesin bilinmemekle beraber sığırlarda HDL ile taşındığı bildirilmektedir (12). Serbest formdaki kolesterolün büyük bir oranı süt veren canlılarda sütte bulunmaktadır (6).

Anne kolostrumunda kolesterol (10, 11, 16) konsantrasyonu yemdeki dalgalanmaya bağlıdır. Gebe koyunlarda plasentanın özelliğinden dolayı yavruya plasenta aracılığı ile sadece küçük moleküllü maddeler geçebilmektedir. Yavrular

gelişmeleri için gerekli olan immunoglobulinler, yağda eriyen vitaminleri ve kolesterol gibi büyük molekülleri kolostrumla almaktadırlar (2, 6, 8, 13, 14).

Koyunlar yurdumuz için önemli besin, yapağı ve deri kaynağıdır. Et tüketimimizin büyük oranını koyun eti oluşturmaktadır ve buna bağlı oluşan damar hastalıklarında ilk sırayı almaktadır (9).

Bu çalışmada kolesterolün kanda ve VLDL/LDL fraksiyonlarındaki dağılımını incelemek için; gıda, yün, deri ve yavru verimi açısından önemli olan; birden fazla yavrulama oranı olan sakız melezi koyunlar ve bunlardan elde edilen kuzular kullanılmıştır. Gebe koyunlar otla adlibitum beslenirken konsantre yem takviyesi yapılmıştır. Kolesterolün analarda ve yeni doğanlardaki seviyeleri incelenmiştir.

### Materyal ve Metot

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma Çiftliğinden aynı dönemde gebe kalan, aynı bakım ve beslenme koşullarında, birden fazla doğurma oranı yüksek 10 adet sakız melezi koyun kullanılmıştır.

Anneler kaliteli otla ad-libitum olarak beslenmiştir ve her gün 1 defa 300 gr (%88 kuru madde, %15 ham protein, %12 hamselüloz ve 2800 Kcal /Kg yem içeren) konsantre yemle desteklenmişlerdir. Birinci grup doğar doğmaz annelerinden ayrılmış ve ticari sütlerle biberon aracılığı ile (YB) beslenmişlerdir, ikinci grup ise anneleri tarafından (AE) emzirilmiştir. Bu süreç içerisinde yavru kuru ota ve normal yeme adapte edildiler. Hayvanlarda kan alımı verilen tabloya göre 5. haftaya kadar devam ettirildi.

**Tablo 1.** Kan alım programı (blood collection program)

| Analar                 | Anayı Emen Yavrular (AE) | Yapay Beslenen yavrular (YB) |
|------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Doğumdan 10 gün önce   |                          |                              |
| Doğumun 1. günü        | Doğumun 1. günü          | Doğumun 1. günü              |
| Doğumdan 3 gün sonra   | Doğumdan 3 gün sonra     | Doğumdan 3 gün sonra         |
| Doğumdan 1 hafta sonra | Doğumdan 1 hafta sonra   | Doğumdan 1 hafta sonra       |
| Doğumdan 2 hafta sonra | Doğumdan 2 hafta sonra   | Doğumdan 2 hafta sonra       |
| Doğumdan 5 hafta sonra | Doğumdan 5 hafta sonra   | Doğumdan 5 hafta sonra       |

Alınan kanlar santrifüj edilerek elde edilen serumlar %0.02'lik EDTA'lı tüplere alınarak deney için -40 °C'de muhafaza edildi.

### Metodlar

Lipoprotein fraksiyonları ile ilgili testler için 2 ml seruma, 1 kısım %10'luk dextran sulfat (Sigma), 5 kısım  $\text{CaCl}_2$  (Riedel De Haen) çözeltisinden 280  $\mu\text{l}$  karıştırılıp oda ısısında 1 saat inkübe edildikten sonra 2000 X g'de 40 dakika santrifüj edildi. Presipitat 500  $\mu\text{l}$  1 M NaCl içerisinde çözüldü ve elde edilen VLDL/LDL'ler kolesterol tayini için serum gibi muamele edildi (8, 12, 16).

Kolesterol tayini serumlarda ve VLDL/LDL ekstraktlarında enzimatik olarak Enzimatik Chod-Pap Kolesterol kiti (Roche) kullanılarak spektrofotometrik yöntemle yapıldı (12, 16).

Bulunan sonuçların istatistiki değerlendirilmesi için One Way Anova DUNCAN testi kullanıldı.

### Bulgular

**Tablo 2.** Anaların kolesterol miktarları ve bunların VLDL/LDL'deki oranları. (cholesterin levels of mothers and their percentage in VLDL/LDL fractions) (n: 10,  $X \pm \text{SD}$ ).

|                       | Doğumdan<br>10 gün önce       | Doğum<br>günü                 | Doğumdan<br>3 gün<br>sonra    | Doğumdan<br>1 hafta<br>sonra  | Doğumdan<br>2 hafta<br>sonra  | Doğumdan<br>5 hafta<br>sonra  |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Kolesterol<br>mg/dl   | 51.79 $\pm$ 7.97 <sup>a</sup> | 59.55 $\pm$ 6.71 <sup>b</sup> | 51.12 $\pm$ 8.62 <sup>a</sup> | 59.10 $\pm$ 9.56 <sup>b</sup> | 67.49 $\pm$ 7.83 <sup>c</sup> | 66.51 $\pm$ 6.26 <sup>c</sup> |
| VLDL/LDL<br>deki %'si | 9.32 $\pm$ 1.14               | 11.58 $\pm$ 3.53              | 12.56 $\pm$ 3.51              | 12.97 $\pm$ 3.35              | 11.06 $\pm$ 2.56              | 11.90 $\pm$ 2.56              |

<sup>a, b, c</sup>: kolesterol değerlerinde farklı harfler içeren satırlar arasındaki farklar önemlidir (p<0.001).

Analar doğumdan önce ve doğum esnasında özellikle doğum haftası içerisinde kolesterol yönünden kayba uğramaktadırlar.



**Tablo 3.** Analarını emen (AE) ve yapay beslenen (YB) kuzuların kolesterol miktarları ve VLDL/LDL'deki oranları (the levels of cholesterol and their percentage in VLDL/LDL by mother suckling lambs (MS) and artificial feeding lambs (AF)) (X±SD).

|                   | Doğum günü              | Doğumdan 3 gün sonra     | Doğumdan 1 hafta sonra   | Doğumdan 2 hafta sonra    | Doğumdan 5 hafta sonra   |
|-------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Grup: AE          |                         |                          |                          |                           |                          |
| Kolesterol mg/dl  | 26.2±6.26 <sup>bc</sup> | 31.8±8.39 <sup>cde</sup> | 25.54±7.00 <sup>bc</sup> | 31.31±6.91 <sup>de</sup>  | 46.23±11.09 <sup>f</sup> |
|                   | n: 10                   | n: 10                    | n: 10                    | n: 10                     | n: 10                    |
| VLDL/LD'deki %'si | 23.98                   | 20.31                    | 25.84                    | 19-40                     | 23.93                    |
| Grup: YB          |                         |                          |                          |                           |                          |
| Kolesterol mg/dl  | 13.30±3.03 <sup>a</sup> | 23.33±11.11 <sup>b</sup> | 25.75±7.90 <sup>bc</sup> | 31.75±6.06 <sup>cde</sup> | 38.62±8.36 <sup>e</sup>  |
|                   | n: 10                   | n: 9                     | n: 8                     | n: 8                      | n: 8                     |
| VLDL/LD'deki %'si | -                       | -                        | 28.47                    | 26.48                     | 25.50                    |

a, b, c, d, e, f: AE ve YB grupları arasında ve içerisinde farklı harflere sahip değerler arasındaki farklar önemlidir. (p<0.005).

Tablo 3'deki kolesterol farklılıkları grup içi kıyaslama bakımından fazla önem göstermesede aynı sütunda yer alan değerler arası fark 1, 2 ve 5. sütunda bulunmaktadır ve buda istatistiki açıdan önemlidir. Yavrularda kolostrumla alınan kolesterol ve diğer lipidlerin yeni doğanların kan seviyelerine olan etkisini her iki grup arasındaki farka bakılarak kolayca anlaşılmaktadır. Beşinci haftaya doğru seviyelerin yakınlaştığı tespit edilmiş olmaktadır.

## Tartışma ve Sonuç

Ruminantlarda yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi ineklerde ve koyunlarda doğumla beraber salgılanan kolostrum yağdan, yağda eriyen maddelerden ve immunglobulinlerden zengin olduğu için analar doğuma yakın zamanda ve doğumu takip eden günlerdeki bu maddelerin eksikliği, kolostrumun doğuma hazırlık olarak salgılanmasından kaynaklandığına düşünebiliriz (10, 11). Yeni doğanların immün sistemlerinin çalışması için kolostrum gerekli maddelerden zengin (8-10, 13, 14) olup analar yavrularını bunlarla beslemektedirler.

Annelerde kolesterol düzeyinde doğum öncesi ve doğum sonrasında meydana gelen azalma ilerleyen günlerde doğum öncesi seviyesine gelmektedir. Fakat doğum öncesi 10. günde kan alınmaya başlanması daha önceki günlerde kan seviyeleri hakkında kesin bilgiye varmamızı engellemektedir. Özpınar ve ark. (10)'nın vermiş olduğu bilgilere göre bu seviyenin gebelikle beraber azaldığı ve gebelik bitiminde tekrar eski seviyesine eriştiği şeklindedir. Annelerde doğum öncesindeki 10. gün ile doğum sonrası 5. hafta arasında kolesterol seviyesinde istatistiki (p<0.001) anlamda farklılık

görülmektedir. Bu farklılık anaların kolostrumla beraber yüksek oranda yağ depolarını boşaltıp yavrularını beslemede kullanmalarından kaynaklanabilir. Bu farklılıklar; doğum, beslenme, birden fazla yavru yapma gibi faktörler tarafından değişebilir ve faktörlerin düzelmesiyle tekrar eski seviyesine kavuşabilir (1, 2, 7).

Koyunların çoğu süper ovulasyona sahip olmaları nedeniyle kanlarındaki kolesterol seviyelerinin normal koyunlarla veya tekli gebe kalanlarla karşılaştırılmasını ırk, çevre, beslenme, iklim gibi şartları göz önüne alarak kolay olmadığına karar verebiliriz. Bazı ırklarda anaların kan kolesterol seviyesi çoklu gebeliklerde tekli gebeliğe göre artmaktadır (2, 3, 10), elde ettiğimiz sonuçlarda bunu doğrulamakla beraber bu artışın veya azalmanın ırklara göre dağılımı ve değerleri bilinmemektedir.

Ruminantlardaki plasenta analardan yavrulara kolesterolün geçişine olanak sağlayamaması nedeniyle başlangıçta çok düşük olan seviyeler (2, 5, 6, 10, 12) yavrularda ilerleyen günlerde yükselmektedir. AE grubunda baştan tespit edilebilen fakat YB grubunda tespit edilemeyen kolesterol değeri ilerleyen günlerde birbirlerine değer olarak yaklaşmakta ve 5. haftada aradaki fark azalmaktadır. Yapay beslenenlerde doğum anında ve 3. günde alınan kandaki kolesterolün VLDL/LDL'deki oranları ilerleyen zamanda ve konsantrasyonla yeme geçişle; yağların ve katkı maddelerinin kolesterol seviyelerine ne kadar etkili olduğunu göstermektedir.

Bu yükselmeler hem grup içinde ve hem de gruplar arasında istatistiki öneme sahip olmakla beraber AE grubunun YB grubuna göre daha çok gelişmesi, sağlıklı olması ve YB grubundaki ölümler gözlemlerle tespit ettiğimiz sonuçlardır; kolesterolün belirli bir oranı koyunlarda hem analarda hem de yavrularda VLDL/LDL fraksiyonları ile taşındığı tespit edilmiştir.

Buradan anlaşıldığı gibi yemlerle alınan maddelerin yavrularda metabolizmasının artmasıyla her iki yavru grubu arasındaki kolesterol oranları ve bunların VLDL/LDL'deki oranlarında doğumla başlayan farkın azaldığı tespit edilmiştir.

### Kaynaklar

1. **Asadian, A., Mirhadi, S. A., Mezes, M.:** Seasonal variation in the concentration of vitamins A and E in the blood plasma of fat-tailed sheep. *Acta Vet. Hung.* 1995; 43 (4): 453-461.
2. **Astrup, H. N., Nedkvitne, J. J.:** Magnesium, glucose and cholesterol in serum of pregnant ewes fed silage and bam dried hay. *Norweg. J. Agric. Sci.* 1987; 1: 75-80.
3. **Brzostowski, H., Milewski, S., Wasilewski, A., Tanski, Z.:** The influence of the reproductive cycle on levels of some metabolism indices in ewes. *Arch. Vet. Pol.* 1995; 35 (1-2): 53-62.
4. **Cathcart, M. K., McNally, A. K., Chisolm, G. M.:** Lipooxygenase mediated transformation of human low density lipoprotein to an oxidized and cytotoxic complex. *J. Lipid Res.* 1991; 32: 63-70.

5. **Donoghue, S., Richardson, D. W., Sklan, D., Kronfeld, D. S.:** Placental transport of retinol in ewes fed high intakes of vitamin A. *J. Nutr.* 1985; Dec: 115 (12): 1562-1571.
6. **Hallford, D.M., Galyean, M. L.:** Serum profiles in fine-wool sheep. *Bovine Practice*, 1982; 3 (4): 26-32.
7. **Lacetera, N., Bernabucci, U., Ronchi, B., Nardone, A.:** The effects of injectable sodium selenite on immune function and milk production in Sardinian sheep receiving adequate dietary selenium. *Vet. Res.*, 1999; 30: 363-370.
8. **Lee, Diana, M.:** A simple and sensitive method in using the ratios of cholesteryl ester molecular species as indexes of oxidative stress in plasma and lipoprotein fractions. *Atherosclerosis*, 1999; 146: 221-235.
9. **Nizamlıoğlu, M., Tiftik, A. M. Turgut, Traş, B.:** Kuzuların beyaz kas hastalığında vitamin E. glutamik oksalasetik transaminaz (GOT), kreatinkinaz (CK) ve Laktat Dehidrogenaz (LDH) aktivitelerinin araştırılması. *Doğa. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, 1991; 15: 59-64.
10. **Özpinar, A., Fırat, A., Akın, G.:** The plasma cholesterol levels of ewes during prepartal and postpartal periods. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 1995; 5,1-2: 32-34.
11. **Özpinar, H., Özpinar, A.:** İneklerde serum kolesterol düzeyi ve lipoprotein fraksiyonları dağılımının incelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1989; 15 (2): 9-19.
12. **Özpinar, H., Schweigert, F. J., Özpinar, A., Wierich, M. Şenel, H. S.:** Aenderung der Verteilung der fettlöslichen Vitamine auf die Lipoproteinfraktionen bei Saugkälbern und Kühen in Abhängigkeit von der Geburt. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 1988; 101: 383-387
13. **Pletsityi, K. D., Askerov, M. O.:** Effect of vitamin A on immunogenesis. *Vopr. Pitan.*, 1982; Jan.-Feb., 1: 38-40.
14. **Palmouist, D. L.:** A kinetic concept of lipid transport in ruminants. *J. Dairy Sci.*, 1976; 59: 355-363.
15. **Turrens, J. F., Freeman, B. A., Levitt, J. G., Crapo, J. D.:** The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particulates. *Arch. Biochem. Biophys.* 1982; 217: 401-410.
16. **Vieira, O. V., Laranjinha, J. A. N., Madeira, V. M. C.:** Rapid isolation of low density lipoproteins in a concentrated fractions free from water-soluble plasma antioxidants. *Journal of Lipid Research*, 1996; 37: 2715-2721.