



İshal Belirtisi Gösteren ve Sağlıklı Buzağılardaki Serum Protein Fraksiyonlarının Karşılaştırılması

Ayşe USTA^{1,a}, Sedat ÇETİN^{2,b}, Veysel YÜKSEK^{3,c}, Pınar EKİCİ^{4,d}, Semiha DEDE^{2,e}

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Van-TÜRKİYE

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE

³Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Özalp Meslek Yüksekokulu, Van-TÜRKİYE

⁴Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Van-TÜRKİYE

ORCID No: ^a0000-0002-5522-3469; ^b0000-0002-6102-8571; ^c0000-0001-7432-4989; ^d0000-0003-2719-5250;
^e0000-0001-5744-6327

Sorumlu yazar: Ayşe Usta; E-posta: ayseusta@yyu.edu.tr

Atıf yapmak için: Usta A, Çetin S, Yüksek V, Ekici P, Dede S. İshal belirtisi gösteren ve sağlıklı buzağılardaki serum protein fraksiyonlarının karşılaştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2021; 18(2): 89-95

Öz: Buzağı ishali, sığır yetiştiriciliğinde ciddi ekonomik kayıplara neden olan önemli sağlık sorunlarından biridir. Bu çalışmada, neonatal ishali buzağılarda serum protein fraksiyonlarının elektroforetik olarak araştırılması planlandı. Bu amaçla, Van ilinde bulunan 7 sığır çiftliğinden temin edilen farklı ırklarda ve cinsiyetlerde, 1-20 günlük ishal belirtileri gösteren 20 buzağı ve kontrol grubu olarak 10 sağlıklı buzağı kullanıldı. *V. jugularis*'inden alınan kan örneklerinden ayrılan serumlar, selüloz asetat elektroforez yöntemi (Helena Lab-Titan III Serum Protein) ile protein fraksiyonlarına ayrıldı. Elde edilen bantlar Platinum 3.0 programında değerlendirildi. İstatistiksel olarak değerlendirilen sonuçlara göre; serum protein konsantrasyonu bakımından toplam protein, alfa-globülin ve gama-globülin düzeyleri açısından gruplar arasında fark olmadığı ($P>0.05$) albümin ve beta-globülin düzeylerinin ishal grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulundu. Total protein yüzde gram açısından; gruplar arasında albümin, alfa ve beta globülin düzeyleri yönünden anlamlı bir fark görülmedi ($P>0.05$). Bununla birlikte, albümin/globülin oranının (A/G) ishal grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ve gama globülin düzeylerinin ise daha düşük olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, serum protein konsantrasyonlarının ishal grubunda önemli ölçüde değişmediği, ancak A/G oranının arttığı, gama globülinlerin ise azaldığı belirlendi.

Anahtar kelimeler: Alfa globülin, asetat elektroforez, gama globülin, serum protein fraksiyonları, yeni doğan ishal

Comparison of Serum Protein Fractions in Diarrhea and Healthy Calves

Abstract: Calf diarrhea is one of the major health problems causing serious economic losses in cattle breeding. This study was intended to investigate serum protein fractions with electrophoresis methods in neonatal diarrhea. In this study, 20 calves that showed signs of diarrhea for 1-20 days in different breeds and genders obtained from farms in the Van city and 10 healthy calves were used as the control group. Blood samples were taken from the *V. jugularis* of the animals. The collected serum was separated into protein fractions by cellulose acetate electrophoresis method (Helena Lab-TitanIII Serum Protein). The resulting bands were evaluated in the Platinum 3.0 program. According to the results evaluated statistically; there was no significant difference between the groups in terms of total protein, alpha globulin, and gamma globulin levels ($P>0.05$). Albumin and beta globulin levels were higher in the diarrhea group than the control group. There was no statistically significant difference ($P>0.05$) between the groups in albumin, alpha and beta globulin levels in terms of percentage of total protein. However, the albumin/globulin ratio (A/G ratio) was higher in the diarrhea group than that in the control group and gamma globulin level was lower in the diarrhea group. As a result, it was determined that serum protein fractions concentration did not change significantly in the diarrhea group. However, it was determined that the A/G ratio increased, gamma globulins decreased.

Keywords: Acetate electrophoresis, alpha globulin, gamma globulin, newborn diarrhea, serum protein fractions

Giriş

Buzağı ishalinin ortaya çıkmasında rol oynayan faktörler; peripartum buzağılama yönetimi, buzağı bağı-şıklığı, çevresel stres veya kontaminasyon ile ilişkili faktörler olarak sıralanabilir (Cho ve Yoon, 2014). Virüsler, bakteriler ve protozoanların tek bir veya birden fazla enfeksiyonu ile artan hasarla ilişkili olarak

bulaşıcı ishale neden olduğu bilinmektedir. Rotavirüs, dünya çapında buzağılarda ishalin ana viral nedensel ajanıdır (Lee ve ark., 2019). Tüm dünyada görülen buzağı ishalinin en yaygın dört enfeksiyöz sebebini Rotavirüs A, *Escherichia coli*, Coronavirüsler, *Cryptosporidium* spp. oluşturmaktadır (Fritzen ve ark., 2019). *Cryptosporidium parvum*, ishal sendromunun nedenlerinden sorumlu olan önemli bir enteropatojendir ve 1970'lerden beri 1-3 haftalık buzağılarda ishal nedeni olarak tanımlanmıştır (Olias ve ark., 2018). Sebep olan etkenlerdeki farklılıklara rağmen ishalin

linik semptomları çok benzerdir. Neonatal buzağı ishali genellikle enfeksiyöz ajanlardan kaynaklanır, sığırlarda çok yaygın görülen bir durumdur ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Bonelli ve ark., 2018). Dışkı, gıda, su ile oral yoldan bulaşabilmektedir. Kapalı sığır yetiştiriciliğinde verimliliği düşüren önemli unsurlar arasında yer almaktadır.

Serum protein elektroforezi, farklı protein fraksiyonlarının ayrılması için basit, güvenilir ve spesifik bir yöntemdir. Elektrik yüklerindeki farklılıklar, protein bileşenlerinin katottan anoda doğru farklı oranlarda göç etmesine neden olur. Farklı protein fraksiyonlarının ağırlığı ve yükü, bunları farklı bantlara ayırır. Serum protein elektroforezinde, ineklerde ve buzağılarda albümin, $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$ ve γ -globülinlerden oluşan altı fraksiyon tespit edilmiştir (Tothova ve ark., 2016). Protein elektroforezi çeşitli hastalıkların tanısında kullanılan yararlı bir yöntemdir. Serum protein fraksiyonlarının ayrılmasında selüloz asetat elektroforezi de kullanılmaktadır. Serum proteinleri çok sayıda fizyolojik fonksiyonları yerine getirirler. Serum proteinleri, kanda bulunan yüzlerce farklı protein grubunu yansıtır. Serum proteinleri, tipik klinik laboratuvarlarda kullanılmak üzere 5-6 elektroforetik bant altında gruplandırılmıştır (Yüksek ve ark., 2019). Serum protein fraksiyonları, sıcaklık, yaş, gebelik, laktasyon, hormonal durum, beslenme, stres ve sıvı kaybı gibi fizyolojik koşullara bağlı olarak kalitatif ve kantitatif olarak farklılık gösterir (Güllü ve Dede 2016). Kan serumunda total protein konsantrasyonunun ölçümü, çeşitli hastalıkları değerlendirmek ve teşhis etmek için en sık kullanılan rutin analizlerden biridir. Bazı hastalıkların teşhisinde serum proteinlerinin vücut fonksiyonlarında oynadıkları anahtar rollerden klinik ilerleme izlenebilir. Serum protein paterninin belirlenmesi ve sonuçlarının doğru yorumlanması, klinisyenler için hastalığın teşhisinde önemlidir ve laboratuvar araştırmaları için daha spesifik bir temel oluşturabilir (Apaydın ve Dede, 2010; Dede ve ark., 2014).

Bu çalışma, ishal semptomları gösteren buzağılarda (neonatal buzağı ishalinde), serum protein fraksiyonlarının selüloz asetat elektroforezi ile belirlenmesi, klinikte ve yetiştiricilikte; ishalin tanı, takip ve tedavisinde bir parametre olarak değerlendirilme olanaklarının araştırılması amacıyla planlandı.

Gereç ve Yöntem

Hayvan materyali

Bu çalışmada, Van ilinde bulunan 7 sığır çiftliğinden elde edilen 1-20 günlük yaşta değişik ırk ve cinsiyetteki 30 baş buzağı kullanıldı.

1. Grup (Kontrol grubu-K): İshal ve dehidrasyon bulgusu olmayan, vücut ısısı, nabız ve solunum sayıları normal olan 10 baş sağlıklı buzağı kontrol grubu olarak kullanıldı.

2. Grup (İshal grubu-İ): Klinik muayene bulgusuna göre; ishal semptomu gösteren ve değişen derecelerde dehidrasyona sahip 20 baş buzağı ishal grubu olarak kullanıldı.

Numune toplama

1-20 günlük yaşta sağlıklı ve ishal grubu buzağılarının *V. Jugularis*'lerinden serum tüplerine yaklaşık 10 ml kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 10 dakika 500 g'de santrifüj edildi ve ayrılan serumlar ependorf tüplere konuldu. Serum örnekleri çalışma gününe kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

Selüloz asetat elektroforezi ile serum proteinlerinin analizi

Saklanan örnekler oda sıcaklığında çözüldü. Protein fraksiyonları, Helena Lab-Titan III® Serum Protein Elektroforez sistemi ile (Beaumont, USA) (Cat No. 3023) ilgili prosedür uygulanarak serumdan ayrıştırıldı. Protein fraksiyonlarının (albümin, alfa1-globülin, alfa2-globülin, beta-globülin ve gama-globülin) konsantrasyonu selüloz asetat elektroforezi ile belirlendi. Bu yöntemde, selüloz asetat kartı, pH'sı 8.6–9.0 olan barbitol tampon ve tris içeren tampon solüsyonunda (Electra HR Buffer Cat No. 5805) karta negatif yük yüklemek için 20 dakika bekletildi. Bekleme sonucunda alınan asetat kartı kurutma kağıdı arasında hafifçe kurutuldu. Yürütme tankının + ve – kutuplarının olduğu bölmelere 100'er ml aynı tampon solüsyonundan konuldu. Filtre kâğıdı yardımıyla yürütme tankı ile tampon solüsyonu arasında temas sağlandı. Senter aplikatör yardımıyla, selüloz asetat kartına 8–10 µl serum örneği uygulandı. Selüloz asetat kartının selüloz kısmı aşağı gelecek şekilde yürütme tankına konulan filtre kâğıtlarının üzerine yerleştirildi ve üzerine kaymaması için lam bırakıldı. Yürütme tankının kapağı kapatıldı ve 180V' de 15 dakika elektrik akımına maruz bırakıldı. Yürütme sonucu oluşacak bantlar uygulama noktasına en yakından başlayarak γ -globülin, β -globülin, $\alpha 2$ -globülin, $\alpha 1$ -globülin ve albümin bantları oluştu. Molekül ağırlığı küçük olan en uzağa gitti. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra selüloz asetat kartı lam sepetine alınıp, sırasıyla şu işlemlere tabi tutuldu: Ponceau S solüsyonunda 6 dakika bekletildi. %5'lik glasiyal asetik asitte ikişer dakika süreyle üç defa değiştirilerek bekletildi. % 100'lük metanolde ikişer dakika süre ile iki defa değiştirilerek bekletildi. 5–10 dakika süre ile Clear Aid solüsyonunda bekletildi. Selüloz asetat kartı 15 dakika süre ile 50–60 °C' de etüve alındı. Şeffaf hale getirilen asetat kartı, tarayıcıya alındı ve görüntüsü taranarak dijital ortama aktarıldı. Elde edilen jel görüntüsü Platinum 3 (version 3.0) (Helena, BioScience Europe) paket program kullanılarak değerlendirildi ve protein konsantrasyonları belirlendi.

Serum total protein konsantrasyonu analizi (Biüret metodu)

Tüm numunelerde serum toplam protein konsantrasyonları, biüret yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu reaksiyonun prensibi, serum proteinlerinin "biüret" kompleksi oluşturmak için sodyum hidroksit içindeki bakır sülfat ile reaksiyona girmesidir. Reaksiyon sonucunda mavi menekşe renkli bir kompleks oluşur. Rengin şiddeti, peptid bağlarının sayısı ve protein miktarı ile orantılıdır (Bushner, 1990). Test tüpüne 10 µl serum konuldu. Reaktif körü ve test tüpüne 500 µl izotonik NaCl solüsyonu ve 500 µl Biüret ayırıcı ilave edildikten sonra tüpler kapatılıp, 30 saniye süre ile çalkalandı, oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi. 546 nm' de spektrofotometrede okuma yapıldı. Protein miktarı ile oluşan rengin şiddeti arasındaki ilişkidenden formül yardımıyla protein miktarı (g/L) tayin edildi.

(Test- Reaktif Körü) x 33.2 = %g protein formülü kullanılarak hesaplama yapıldı.

İstatistiksel analiz

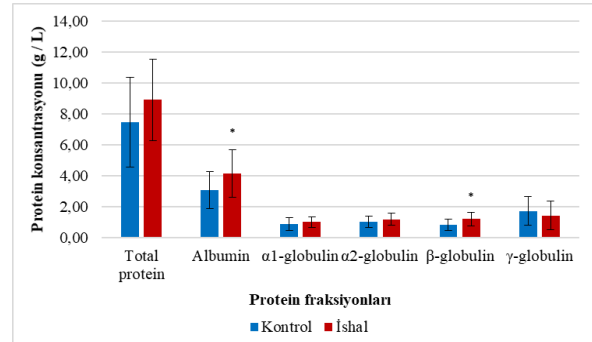
Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama ± Standart Hata olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile varyansların homojenliği Levene testi ile belirlenmiştir. İshal (hasta) ve Kontrol gruplarını karşılaştırmada Bağımsız gruplar t testi (Independent samples t-test) kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi P<0.05 olarak belirlenmiş ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics (ver: 22) istatistik paket programı kullanılmıştır.

Bulgular

Yeni doğan buzağı ishalinde elde edilen serum protein fraksiyonları konsantrasyon sonuçları aşağıdaki tabloda sunuldu (Tablo 1).

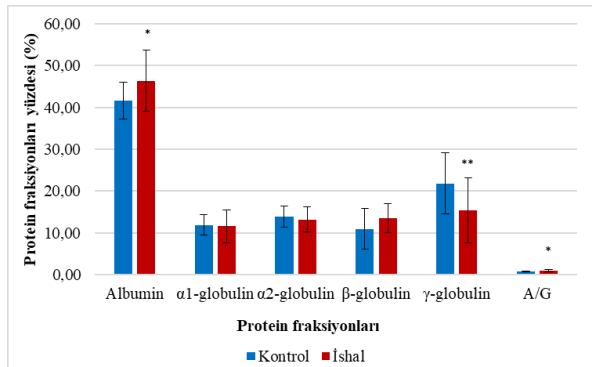
Serum protein fraksiyonlarının konsantrasyonları bakımından toplam protein, alfa-globülinler ve gama-

tırılması ile elde edilen veriler Tablo 2'de özetlendi.



Şekil 1. Sağlıklı ve ishalleri buzağılarda serum protein fraksiyonları konsantrasyonlarının karşılaştırılması (*: P<0.05).

İki grup arasında serum total protein fraksiyonları yüzdesi (%) bakımından albumin, alfa-globülinler, beta-globülin bakımından fark gözlemedi (P>0.05).



Şekil 2. Sağlıklı ve ishalleri buzağılarda total serum protein fraksiyonları yüzdesi (%g) (*: P<0.05; **: P<0.01).

Tablo 1. Sağlıklı ve ishalleri buzağılarda serum protein fraksiyonlarının konsantrasyonları (g/L)

Serum proteinleri (g/L)	Kontrol grubu (Ort±SH) n=10	İshal grubu (Ort±SH) n=20	P
Total protein	7.47±2.90	8.91±2.63	0.183
Albümin	3.07±1.22*	4.14±1.52	0.005
α1-globülinler	0.88±0.42	0.99±0.35	0.091
α2-globülinler	1.01±0.39	1.16±0.39	0.422
β-globülinler	0.80±0.38*	1.19±0.43	0.003
γ-globülinler	1.72±0.92	1.42±0.92	0,267

* : P<0.05; Ort+SH: Ortalama±Standart hata

globülin düzeyleri açısından gruplar arasında fark yoktu (P>0.05). Albümin (4.14±1.52) ve beta globülin (1.19±0.43) düzeyleri ishal grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (Şekil 1).

Çalışma gruplarında serum protein fraksiyonlarının total protein içindeki yüzde düzeylerinin (%) karşılaşt-

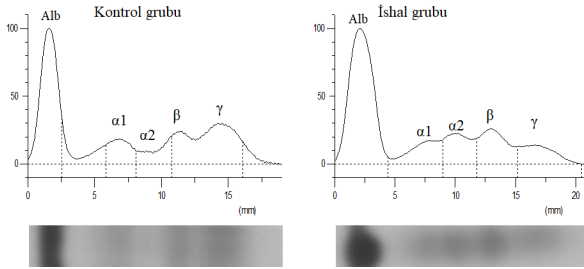
ışal grubunda kontrole göre A/G oranının yüksek (0.90), gama globülin düzeyinin ise düşük (15.38) olduğu saptandı. Kontrol ve ishal gruplarında A/G yüzdeleri bakımından anlamlı farklılık gözlemedi (P<0.05) (Şekil 2).

Tablo 2. Sağlıklı ve ishallerli buzağılarda total serum protein fraksiyonları yüzdesi (% g)

Serum proteinleri	Kontrol grubu (Ort±SH) n=10	İshal grubu (Ort±SH) n=20	P
Albümin	41.61±4.40*	46.34±7.35	0.049
α1-globülinler	11.86±2.45	11.56±3.90	0.846
α2-globülinler	13.80±2.52	13.22±3.01	0.131
β-globülinler	10.91±4.88	13.49±3.42	0.054
γ-globülinler	21.82±7.29**	15.38±7.72	0.011
A/G	0.72±0.14*	0.90±0.24	0.049

*: P<0.05; **: P<0.01; A/G: Albümin/globülin oranı

Gruplara ait saptanan serum protein fraksiyonlarının elektroforetik bant görüntüsü ve elektroferogramları Şekil 3'de verildi.



Şekil 3. İshal ve kontrol grubuna ait bant görüntüsü ve elektroferogramı.

Tartışma ve Sonuç

İshalin sebebinin belirlemek zor olduğu için kontrolü de zor olmaktadır. İshallerli buzağılarda sıklıkla dehidrasyon, güçlü iyon asidozu, elektrolit anormallikleri gelişir ve negatif enerji dengesi oluşturur (Smith, 2009). Süt ineği çiftliklerindeki buzağı ölüm nedenlerinin yarısından fazlasını ishal oluşturmaktadır (Foster ve Smith, 2009). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sığır yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biri olan ishal, buzağılarda en sık olarak neonatal dönemde (doğumdan sonraki 3-4 haftalık sürede) görülmektedir (Özkan ve Akgül, 2004).

Klinik olarak önemli olan serum proteinlerinin, lipid, hormon, vitamin ve metaloenzimlerin dolaşımında taşınması, tamamlayıcı komponentler, hücresel olmayan aktivitenin ve immun sistemin düzenlenmesi de dahil pek çok farklı fonksiyonları vardır. Serum proteinleri, kanda bulunan yüzlerce farklı protein grubunu yansıtır. Serum proteinleri, klinik laboratuvarlarda kullanılmak üzere karakteristik 5 elektroforetik bant altında gruplandırılır. Akut uyarı sonucu konsantrasyonları değişen akut faz proteinleri (AFP), immunoglobülinler gibi enfeksiyon yada travma esnasında oluşan yangıya cevap olarak sentez edilirler ve farklı hayvan türlerinde, akut faz protein yanıtı türe özgü değişir. Serumdaki AFP konsantrasyon tespitinin, prognoz ve hastalığın izlenmesinde değerli bilgiler verdiğini gösteren araştırmalar yapılmıştır (Yüksek ve ark., 2013; Çetin ve ark., 2020). Enfeksiyon sırasın-

da, akut faz proteinlerinin izlenmesi, buzağılarda ishale yol açan hastalıkların prognozunu veya tedavisini izlemek için yararlı olabilir (Balıkcı ve Al, 2014; Petersen ve ark., 2004; Gökçe ve Bozukluhan, 2009).

Protein elektroforezi, rutin analizlerle teşhis için yeterli bilgi sağlanamadığında daha spesifik laboratuvar analizleri için en yaygın kullanılan ayırma tekniğidir. Serum proteinleri bazı fizyolojik işlevleri yerine getirir ve farklı fizyolojik ve patolojik koşullar altında serumda farklı miktarlarda bulunurlar. Gama globülinler hariç tüm kan proteinleri, karaciğerde sentezlenir. İmmunoglobülinler (gama globülinler) plazma hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Serum proteinleri karaciğerin protein üretiminin azalması veya protein kaybı oluşan durumlarda azalır. Özellikle serum protein fraksiyonları, farklı fizyolojik fazlar sırasında meydana gelen dehidrasyon, plazma hacmi genişlemesi ve hepatik fonksiyon hakkında bilgi verebilir (Alberghina ve ark., 2013; Tothova ve ark., 2017). Bu çalışmada sağlıklı ve ishal grubundaki buzağılardan alınan serumlarda, potansiyel bir belirleyici olarak total protein, albümin, α1-globülin, α2-globülin, β-globülin ve γ-globülin ve A/G oranı ile birlikte toplam 7 belirteç değerlendirildi.

Sağlıklı buzağılardan elde edilen serum total protein, albümin değerleri sığırlar için bildirilen referans değer aralığındadır ve serum toplam protein konsantrasyonunda anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Bununla birlikte, ishallerli buzağılarda toplam protein düzeylerinin kontrollere göre daha düşük olduğunun gözlemlendiği bildirilmiştir (Viring ve ark., 1993). Bu çalışmada, ishallerli hayvanların serum total protein düzeyinin kontrole göre önemli derecede yüksek olduğu belirlendi. Nitekim, ishallerli buzağılara ait serumlarda total protein değerinde artış tespit edildiğine dair (Uzlu ve ark., 2010 ; Nafie ve ark., 2015; Merhan ve ark., 2016) çalışmalar ile uyumludur.

Albümin; bilirubin, hormonlar, metaller, vitaminler ve ilaçların taşınmasında görevlidir. Albümin sentezini etkileyen birincil faktörler arasında protein ve amino asit beslenmesi, koloidal ozmotik basınç, bazı hormonların etkisi ve hastalık durumları bulunur (Busher, 1990). İshallerli buzağılarda albümin düzeyi ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. İshallerli buzağılarda serum albümin düzeyinde önemli (Uzlu ve ark., 2010) ve önemsiz (Merhan ve ark., 2016)

düşüşler olduğu bildirilmiştir. Aşırı ishal ve susuzluğa bağlı olarak serum albümin konsantrasyonlarının anlamlı olarak arttığına dair sonuçlar da elde edilmiştir (Pazarçeviren, 2008; Mohri ve ark., 2007; Nafie ve ark., 2015). Bu çalışmada serum protein konsantrasyonları bakımından toplam albümin düzeylerinin ishal grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulunmuş ve albümin düzeylerindeki bu artışın ishal kaynaklı dehidrasyona bağlı olduğu düşünülmüştür.

Alfa globülin fraksiyonları kendi içinde alfa-1 ve alfa-2 olarak ayrılırlar. α -globülin fraksiyonlarının artışı genellikle akut bir enflamatuar yanıtla ilişkilidir. Bir çalışmada yenidoğan buzağı ishali ile alfa-2 globülin konsantrasyonu arasında pozitif ilişkili bulunmuştur. Alfa-2 globülin fraksiyonu haptoglobülin ve seruloplazmin akut faz proteinlerini içerdiğinden (Pardon ve ark., 2015), hali hazırda devam eden inflamasyonun büyük olasılıkla bu ilişkiyi açıkladığı düşünülmektedir. Akut inflamasyonun, albüminde önemsiz değişikliklerin eşlik ettiği alfa-1 ve alfa-2 globülin fraksiyonlarında önemli bir artışa yol açtığı (Pekcan ve ark 2012), aşırı ishal ve susuz buzağılarda serum alfa-globülin konsantrasyonları anlamlı olarak arttığı (Thornton ve ark., 1972) bildirilmektedir. Neonatal buzağı ishalinde alfa-globülin ishalde hafifçe artmış, beta fraksiyonu etkilenmemiştir (Fitzgerald, 1964). Bu çalışmada serum protein konsantrasyonları bakımından ve yüzde gram protein bakımından gruplar arasında alfa-1 ve alfa-2 globülin bakımından fark gözlenmedi.

Beta-globülin fraksiyonunun önemli proteinleri, hemopeksin ve transferrindir. Bu çalışmada serum protein konsantrasyonları bakımından beta-globülin düzeyleri ishal grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. İki grup arasında (%) yüzde gram protein bakımından beta-globülin bakımından fark gözlenmedi.

Avrupa'daki birçok veteriner, teşhis laboratuvarlarında Ig'lerin konsantrasyonunu belirlemek için daha ucuz olduğundan dolayı serum elektroforezini kullanmaktadır (Pardon ve ark 2015). Globülin fraksiyonundaki artışlar genellikle immunoglobülinlerdeki bir artıştan kaynaklanır, ancak patolojik durumlarda karakteristik diğer proteinlerde de bir artış olabilir. Yetersiz beslenme ve konjenital bağırsıklık yetersizliği, sentez azalması nedeniyle toplam globülinlerde azalmaya neden olabilir ve nefrotik sendrom, böbrek yoluyla protein kaybına bağlı olarak azalmaya neden olabilir (Busher, 1990). Doğum sonrası ilk 24-48 saatlik buzağılarda serum immunoglobülin konsantrasyonunu etkileyen birçok faktör vardır. Kan serumundaki immunoglobülin konsantrasyonları γ -globülinlerinin göçüne bağlı olarak elektroforetik olarak değerlendirilebilir (Piccione ve ark., 2012). Enfeksiyona karşı koymak için serum gama globülinlerin ana fraksiyonu olarak kabul edilen serum immunoglobülinlerinin bağırsağa aktarılması ile gama globülin konsantrasyonunun önemli ölçüde azalmasına yol açabilir

(Athanasios, 2019; Rocha ve ark., 2016). Bu durum ishal için önemli bir koruma mekanizmasıdır. Yeni doğan ishalli buzağılarda serum gama globülinlerinde anlamlı azalma olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (Mohri ve ark., 2007; Athanasios, 2019; Kim ve ark., 1997; Viring ve ark., 1993). İlk 30 gün içinde ishal geçiren buzağılarda, asemptomatik buzağılardan daha düşük serum Ig konsantrasyonları olduğu, yaşamın ilk ayında ölen buzağılarda hayatta kalan buzağılardan yaklaşık iki kat daha düşük serum Ig konsantrasyonları görüldüğü bildirilmiştir (Lora ve ark., 2018). Sunulan bu çalışmada, yukarıda verilen kaynaklar ile uyumlu olarak iki grup arasında (%) yüzde gram protein bakımından gama globülin düzeyinin ishal grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu saptandı.

A/G oranı, buzağılardaki serum globülin konsantrasyonlarındaki değişiklikleri vurgulayan başka bir parametredir. Sağlıklı buzağı serumunda doğumdan sonraki ilk saatlerde A/G'deki düşüş, globülin fraksiyonunda bir artışa işaret eder (Marc ve ark., 2018). Bu çalışmada ishal grubunun A/G oranının ishal grubunda kontrol grubuna göre yüksek, gama globülin düzeyinin ise kontrol grubuna göre düşük olduğu saptandı. Bu durumun gama globülinlerin azalmasına bağlı olarak, A/G oranında bir artışa neden olduğu sonucuna varıldı.

Bu çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda, serum protein konsantrasyonları bakımından toplam protein, alfa-globülinler ve gama-globülin düzeyleri açısından gruplar arasında fark olmamasına rağmen, albümin ve beta-globülin düzeyleri ishal grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. İki grup arasında (%) yüzde gram protein bakımından albümin, alfa-globülinler, beta-globülin bakımından fark gözlenmedi. İshal grubunda, kontrole göre A/G oranının yüksek, gama globülin düzeyinin ise düşük olduğu saptandı. Bu sonuçlar, yeni doğan buzağılarda protein metabolizmasının ishalden etkilenmesi nedeniyle serum proteinlerinin, ishali patogenezinin anlaşılması ve veteriner kliniğinde rutin bir parametre olarak kullanılabilme olanaklarını ortaya koymaya yönelik çalışmalara bir veri sağlaması açısından kayda değer bulundu. Bu çalışmada ishal bir semptom olarak kabul edilmiş ve sadece bir ön çalışma olarak değerlendirilmiştir. Yeni doğan buzağı ishali neden olan etkenlerin tanımlanarak değerlendirileceği, bu parametreler arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılmasına dair daha ileri çalışmalar yapılmasında yarar olabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

Alberghina D, Casella S, Giannetto C, Marafioti S, Piccione G. Effect of storage time and temperature on the total protein concentration and electrophoretic fractions in equine serum. *Can J Vet Res* 2013; 77(4): 293-6.

- Apaydin B, Dede S. Electrophoretic profile of serum protein fractions from sheep naturally infected with *Babesia ovis*. Rev Med Vet 2010; 161(2): 57-60.
- Athanasidou LV, Katsoulos PD, Ziogas C, Kassab A, Polizopoulou Z. Serum protein electrophoretic profile in diarrheic neonatal calves. Comp Clin Path 2019; 28(3): 685-8.
- Balikci E, Al M. Some serum acute phase proteins and immunoglobulins concentrations in calves with rotavirus, coronavirus, *E. coli* F5 and *Eimeria* species. Iran J Vet Res 2014; 15(4): 397-401.
- Bonelli F, Turini L, Sarri G, Serra A, Buccioni A, Mele M. Oral administration of chestnut tannins to reduce the duration of neonatal calf diarrhea. BMC Vet Res 2018; 14(1): 227-32.
- Busher JT. Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations. Chapter 101. Walker HK, Hall WD, Hurst JW. Eds. In: Serum Albumin and Globulin. Third Edition. Boston: Butterworths, 1990.
- Cho Y, Yoon K. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. J Vet Sci 2014; 15(1): 1-17.
- Çetin S, Usta A, Ekici P, Dede S, Yüksek V. *Sarcoptes ovis* ile enfekte koyunlarda serum protein fraksiyon profili. Atatürk Üniv Vet Bil Derg 2020; 15(1): 70-5.
- Dede S, Altuğ N, Değer Y, Özdal N, Ceylan E. Serum biochemical profile and protein fractions in cattle with theileriosis. Revue Med Vet 2014; 165(5-6): 137-43.
- Fitzgerald PR. Deviations in serum proteins associated with *Eimeria bovis* infections in calves. J Parasitol 1964; 50(1): 42-8.
- Foster DM, Smith GW. Pathophysiology of diarrhea in calves. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009; 25(1): 13-36.
- Fritzen JTT, Oliveira MV, Lorenzetti E, Miyabe FM, Viziack MP, Rodrigues CA, Ayres H, Alfieri AF, Alfieri AA. Longitudinal surveillance of rotavirus a genotypes circulating in a high milk yield dairy cattle herd after the introduction of a rotavirus vaccine. Vet Microbiol 2019; 230(1): 260-4.
- Gökçe Hİ, Bozukluhan K. Çiftlik hayvanlarında önemli akut faz proteinleri ve bunların veteriner hekimlik alanındaki kullanımı. Dicle Üniv Vet Fak Derg 2009; 1(1): 1-14.
- Güllü A, Dede S. The serum protein fractions in thymoquinone treated rats. Afr J Tradit Compl Altern Med 2016; 13(6): 27-31.
- Kim H, Lee J, Kwon O, Park J, Park S. Studies on the electrophoretic analysis of serum protein in Korean native calves. Korean J Vet Res 1997; 37(2): 451-6.
- Lee SH, Kim HY, Choi EW, Kim D. Causative agents and epidemiology of diarrhea in Korean native calves. J Vet Sci 2019; 20(6): e64.
- Lora I, Gottardo F, Contiero B, Ava BD, Bonfanti L, Stefani A, Barberio A. Association between passive immunity and health status of dairy calves under 30 days of age. Prev Vet Med 2018; 152(1): 12-5.
- Marc S, Kirovski D, Mircu C, Hutu J, Otava G, Paul C, Boldura OM, Tulcan C. Serum protein electrophoretic pattern in neonatal calves treated with clinoptilolite. Molecules 2018; 23(6): 1-9.
- Merhan O, Bozukluhan K, Gökçe G, Yılmaz O. İshalli buzağılarda haptoglobin, seruloplazmin ve bazı biyokimyasal parametre düzeylerinin araştırılması. Fırat Üniv Sağlık Bil Vet Derg 2016; 30(3): 195-8.
- Mohri M, Sharifi K, Eidi S. Hematology and serum biochemistry of holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. Res Veteriner Sci 2007; 83(1): 30-39.
- Nafie T, Ali A, Abd Elkhaliq D, Suez C. Clinical and laboratory studies on diarrhea problem in newborn calves. Suez Canal Vet Med J 2015; 20(1): 105-6.
- Olias P, Dettwiler I, Hemphill A, Deplazes P, Steiner A, Meylan M. The significance of cryptosporidiosis for the health of calves in Switzerland. Schweiz Arch Tierheilkd 2018; 160(6): 363-74.
- Özkan C, Akgül Y. Neonatal İshalli buzağılarda hematolojik, biyokimyasal ve elektrokardiyografik bulgular. YYU Vet Fak Derg 2004; 15(1-2): 123-9.
- Pardon B, Alliet J, Boone R, Roelandt S, Valgaeren B, Deprez P. Prediction of respiratory disease and diarrhea in veal calves based on immunoglobulin levels and the serostatus for respiratory pathogens measured at arrival. Prev Vet Med 2015; 120(2): 169-76.
- Pazarçeviren B. İshalli buzağılarda akut faz proteinleri düzeylerinin belirlenmesi ve klinik önemi, Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniv Sağlık Bil Ens, Aydın 2008; s.47.
- Pekcan M, Altıntaş A, Karagül H, Fidancı UR, Uysal H, Besaltı O, Unubol Aypak S, Ciftci, Bilgihan S, Hanedan B. Serum biochemistry and native protein electrophoresis in diarrheic calves with arthritis. Acta Veterinaria (Beograd) 2012; 62(2-3): 261-9.

- Petersen HH, Nielsen JP, Heegard PMH. Application of acute phase proteins in veterinary clinical chemistry. *Vet Res* 2004; 35(1): 163-87.
- Piccione G, Alberghina D, Marafioti S, Giannetto C, Casella S, Assenza A, Fazio F. Electrophoretic serum protein fraction profile during the different physiological phases in Comisana ewes. *Reprod Domest Anim* 2012; 47(4): 591-5.
- Rocha TG, Silva FDF, Bortoletto C, Silva DG, Buzinaro MG, Zafalon LF, Faglar JJ. Serum concentrations of acute phase proteins and immunoglobulins of calves with rotavirus diarrhea. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2016; 68(4): 865-72.
- Smith GW. Practice, treatment of calf diarrhea: oral fluid therapy. *Vet Clin North Am Food Animal Pract* 2009; 25(1): 55-72.
- Thornton JR, Willoughby RA, McSherry BJ. Studies on diarrhea in neonatal calves: the plasma proteins of normal and diarrheic calves during the first ten days of age. *Can J Comp Med* 1972; 36(1): 17-25.
- Tothova C, Nagy O, Kovac G, Nagyova V. Changes in the concentrations of serum proteins in calves during the first month of life. *J Appl Anim Res* 2016; 44(1): 338-46.
- Tothova C, Mihajlovicova X, Nagy O. Ruminants-The Husbandry, Economic and Health Aspects. (Chapter 6). First Edition. UK, 2017; pp.105-46.
- Uzlu E, Karapehlivan M, Çitil M, Gökçe E, Erdoğan HM. İshal semptomu belirlenen buzağılarda serum sialik asit ile bazı biyokimyasal parametrelerin araştırılması. *YYU Vet Fak Derg* 2010; 21(2): 83-6.
- Viring S, Olsson SO, Aleniús S, Emanuelsson U, Jacobsson SO, Larsson B, Linde N, Uggla A. Studies of enteric pathogens and gamma-globulin levels of neonatal calves in Sweden. *Acta Vet Scand* 1993; 34(3): 271-9.
- Yüksek V, Dede S, Ceylan E. The electrophoretic determination of serum protein fractions in lycopene treated experimental diabetic rats. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67(3): 1283-9.
- Yüksek V, Ekici P, Dede S, Çetin S, Usta A. Profiles of serum protein fractions pre-treatment and post-treatment in lambs with pica disorder. *TJVR* 2019; 3(2): 67-71.