

Doğal Enfekte Nematotlu Kilis Keçilerinde Eritrosit SOD, CAT, GPx Enzim Aktiviteleri ve MDA Düzeyi

Güzin ÖZKURT^{1*} Ahmet GÖKÇEN² İlker ÇAMKERTEN³
Tekin ŞAHİN³ Burcu Menekşe BALKAN⁴ Metin BOZ³

¹ Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

² Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

³ Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

⁴ Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

Özet: Bu çalışma, nematotlu keçilerde, tedavi öncesi ve sonrasında eritrosit Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri ve Malondialdehit (MDA) düzeylerindeki değişikliklerin belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Çalışmanın materyalini nematot enfestasyonlu 16 Kilis keçisi oluşturdu. Antiparaziter olarak enjekteabl rikobendazol (Rizal, Sanovel, 3.75 mg/kg) kullanıldı. Tedavinin 5. gününde keçilerin tamamının parazitolojik olarak iyileştiği belirlendi. Enfeste keçilerin V. jugularisinden tedavi öncesinde ve tedavi sonrası 5. günde heparinli tüplere kan alındı. Eritrosit SOD, CAT, GPx aktiviteleri ve MDA düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi. Tedavi öncesine göre tedavinin beşinci gününde SOD (368,33±33,29 ile 416,62±29) aktivitesinde artış, CAT (94,34±6,76 ile 79,51±6,07) ve GPx (4088,20±516,93 ile 3299±446,82) aktivitesi ile MDA (3,03±0,31 ile 2,56±0,37) düzeylerinde ise düşüş gözlemlendi. Bu değişikliklerin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi.

Anahtar kelimeler: Oksidan, Antioksidan, Rikobendazol, Keçi, Nematod

Erythrocyte SOD, CAT, GPx Enzymes Activity and MDA Level in Kilis Goats with Naturally-Occurred Nematodiasis

Abstract: This article aims to determine the changes in erythrocyte Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GPx) activities and Malondialdehyde (MDA) levels of nematode-infected goats before and after treatment of ricobendazol. The study was conducted in 16 Kilis goats. To treat animals, the injectable form of ricobendazole (Rizal, Sanovel, 3.75 mg / kg) was applied. On the 5th day of treatment all goats were treated. Before and 5th day of treatment, blood samples of infected-goats were taken from V. Jugularis and collected into heparinized tubes. To determined SOD, CAT, GPx activities and MDA levels in Erythrocyte spectrophotometric analysis were performed. On the fifth day of treatment there was an increase in SOD activity (368.33 ± 33.29 to 416.62 ± 29), a reduction in CAT (94.34 ± 6.76 to 79.51 ± 6.07), GPx activity (4088.20 ± 516.93 to 3299 ± 446.82) and MDA levels (3.03 ± 0.31 to 2.56 ± 0.37). However, these changes were not statistically significant.

Keywords: Oxidant, Antioxidant, Ricobendazole, Goat, Nematode

Giriş

Çiftlik hayvanlarında birçok endoparaziter hastalık gözlenmekte, ancak özellikle gastrointestinal sesto ve nematodlar ile karaciğer trematodlarını içeren helmint enfeksiyonları büyük önem arz etmektedir. Endoparaziter hastalıklar, üreme performansında düşüklük, gelişme geriliği, et, süt ve yapağı gibi hayvansal ürünlerde nitelik ve nicelik yönünden kayıplara neden olmalarının yanı sıra, hasta hayvanların sağaltımı için harcanan tedavi masrafları ile de ülke ekonomisi için büyük kayıplara yol açmaktadır (Yüksek ve ark., 2007). Paraziter hastalıkların sağaltımında levamisol, ivermektin, doramektin, oksfendazol, moksidektin

ve rikobendazol gibi pek çok antelmintik ilaç bulunmaktadır.

Geniş spektrumlu antelmintiklerden benzimidazol ve probenzimidazol Veteriner ve İnsan hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Benzimidazol karbomat türevi olan "rikobendazol" albendazol-sülfoksit olarak adlandırılır. Bu ilaç, parazitlerin beta tubulinin polimerizasyonunu inhibe ederek, enerji metabolizmasına zarar vermesi nedeniyle helmintleri öldülmektedir (Şahin ve ark., 2009, Yarsan ve ark., 1999). Aerobik organizmalarda normal oksijen metabolizması sonucu açığa çıkan reaktif serbest radikaller,

antioksidan savunma sistemi ile kontrol altında tutulur. Fizyolojik koşullarda serbest radikaller ile antioksidan mekanizmalar denge halinde iken, bu dengenin oksidanlar yönünde değişmesi "Oksidatif Stres" olarak bilinir ve ileri doku hasarına yol açar. Serbest radikaller membran lipidlerinin peroksidasyonuna neden olarak membran geçirgenliğini artmasına ve hücrenin iyon dengesinin bozulmasına sebep olur. Malondialdehit gibi tiyobarbitürik asit reaktifleri, konjuge dienler ve lipid hidroperoksitlerinin ölçümü, dokulardaki oksidatif stresi gösteren lipid peroksit belirleyicileridir (Kozan ve ark., 2010). Normal koşullar altında serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta enzimatik [Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidaz (GPx) gibi] ve enzimatik olmayan [Redükte Glutasyon (GSH) ve vitaminler (A,C,E) gibi] savunma mekanizmaları gelişmiştir ki bunlar antioksidanlar olarak bilinir (Değer S. ve ark., 2008).

Ruminantların parazitler hastalıklarında konakçıda gelişen oksidatif stresin değerlendirilmesine yönelik yapılan çalışmalarda; koyunda *Distomatosis*'de (Değer Y. ve ark., 2008), *dictyocaulus viviparus* ile enfekte sığırlarda (Değer S. ve ark., 2008), *Trichostrongylidae sp + Protostrongylidae sp+ Eimeria sp+ Babesia sp.* ile enfekte kıl keçilerinde (Dede ve ark., 2002) serbest radikallere bağlı olarak lipid peroksidasyonun meydana geldiği bunun sonucu olarak da enzimatik antioksidanların (SOD, CAT, GPx) aktivitelerinde düşüş gözlemlendiği, bu düşüşün enzim inhibisyonuna bağlı olabileceği, enzimatik olmayan antioksidanlardan glutasyon ve vitaminlerdeki (C,E,A,beta karoten) konsantrasyon azalmasının ise tükenmeye bağlı olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmaların yanı sıra organizmada mevcut korunma sistemlerine destek amacıyla, dışarıdan antioksidan özellik gösteren maddeler uygulandığında, parazitlerin neden olduğu hücre yıkımının kısmen önlendiğini gösteren çalışmalar da yapılmıştır (Değer S. ve ark., 2008).

Bu çalışmada; doğal olarak enfekte nematotlu keçilerde, tedavi öncesi ve sonrasında eritrosit SOD, CAT, GPx aktiviteleri ve MDA düzeylerindeki değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmanın materyalini; Şanlıurfa'da özel bir çiftlikte bulunan 2-5 yaşlarında ve 30-50 kg ağırlığında, parazitolojik muayene sonucu endoparazit (Tablo 1) varlığı tespit edilen 16 Kilis keçisi oluşturdu. Parazitolojik muayene, keçilerin

direkt rektumundan alınan dışkı örneklerine McMaster flatsasyon tekniği ile yapıldı (Urquart ve ark. 1996). Klinik muayene ve anamnez bilgilere göre keçilerin kondüsyonlarının kötü olduğu ve son bir yılda iç parazitler uygulama yapılmadığı dolayısıyla enfeksiyonun kronik olduğu düşünüldü. Tedavinin 0. gününde tüm hayvanlardan kan alındıktan sonra Antelmintik olarak enjektabl rikobendazol 3.75 mg/kg dozunda subkutan (SC) uygulandı. Tedavinin 5. gününde ikinci kez dışkı muayenesi yapılarak keçilerin tamamının parazitolojik olarak iyileştiği belirlendi ve kan alındı.

Enzim analizi için eritrositlerin hazırlanmasında Winterbourn (1975) tarafından belirtilen yöntem kullanıldı. Eritrositler porsiyonlanarak -40 °C de analize kadar saklandı. Glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentine (1967), Süperoksit dismutaz aktivitesi Sun ve Ark. (1988), Katalaz aktivitesi Aebi (1983) tarafından bildirilen yöntemlerle ölçüldü. Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılan hemoglobin düzeyleri ferrosiyanomethemoglobin metoduyla ölçüldü (Tietz, 1987). Eritrosit MDA düzeyi Buege ve Aust (1978) yöntemi ile ölçüldü (Tablo 2).

Çalışmada istatistiksel analizler SPSS 10.0 paket programıyla yapıldı (Sokal, R.R. and F.J. Rohlf, 1995). Değerlere, dağılımın normalliği (normality) testi uygulandıktan sonra, gruplar arası farklılıkların tespitinde paired t- testi kullanıldı.

Bulgular

Tedavi öncesinde parazitolojik muayene sonucu doğal enfekte nematot varlığı tespit edildi. Tedavi sonrasında (5. Gün) yapılan dışkı muayenesinde ise keçilerin tamamının parazitolojik olarak iyileştiği belirlendi. Tespit edilen eritrosit SOD, CAT, GPx aktivite ve MDA düzeyleri tablo 2'de verildi.

Tartışma ve Sonuç

Parazitler enfekte hayvanlarda konağa ait kan parametrelerinin ve konak biyokimyasının normal fizyolojik değerlere göre farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir (Kozan ve ark., 2010). Parazitler yerleştikleri doku, organ ve hücrelerde serbest radikal miktarını arttırarak lipid peroksidasyonuna neden olup, konakçıda doku ve hücre hasarı oluşturur (Değer S ve ark., 2008). Bu çalışmada, tedavinin 0. gün MDA konsantrasyonunun, CAT ve GPx aktivitesi 5. güne göre yüksek, SOD aktivitesi ise düşük ve istatistiksel bir önem tespit edilmemiş olması bakımından Değer Y. ve ark. (2008)' larının *Distomatosis*li koyunların karaciğer dokusu lipid peroksidasyon ve enzimatik antioksidanların

aktiviteleri üzerine yaptıkları çalışma sonuçlarıyla (MDA konsantrasyonu ve GPx aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek, SOD ve CAT aktivitelerinin ise düşük) örtüşmemektedir. Kılıç ve ark.(2004) *Taenia saginata* ile enfekte insanlardaki lipid peroksidasyon düzeylerini araştırdıkları çalışmalarında istatistiksel önem tesbit edemediklerini ama hastalardaki MDA düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olmasını, serbest radikal hasarına karşı antioksidan savunma sistemi aktivitesinin düşmesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Bu yönüyle bizim çalışmamızla örtüşmektedir. Her ne kadar istatistiksel açıdan önem

tespit edilememiş olsa da çalışmadaki MDA konsantrasyonunun hasta keçilerde yüksek oluşu lipid peroksidasyonun varlığını, SOD aktivitesindeki azalmanın ise süperoksit radikalinin artmış olabileceğini ve buna bağlı olarak enzimi inhibe ederek aktivitesini düşürdüğünü ve iyileşmeye bağlı olarak tekrar yükseldiğini, CAT ve GPx aktivitesindeki yükselmenin ise süperoksit radikali dismutasyonu sonucu oluşan H₂O₂'in artmış olabileceğini ve buna paralel olarak bu iki enzimi indükleyerek kompanzasyon sağlandığını düşündürmektedir.

Tablo 1. Mide-bağırsak nematodları ile doğal enfekte Kilis keçilerinde tedavi öncesi ve rikobendazole ile tedavi sonrası gram

Enfekte keçi sayısı	Gram dışındaki yumurta sayısı- (EPG)		Etki (%)
	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	
2	50	0	100
1	100	0	
1	150	0	
1	200	0	
3	250	0	
2	300	0	
4	400	0	
2	600	0	
1	800	0	

Tablo 2. Eritrosit SOD, CAT, GPx aktivite ve MDA düzeyleri

Enfekte keçi sayısı	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası
SOD	368,33±33,29	416,62±29 -
CAT	94,34±6,76	79,51±6,07 -
GPx	4088,20±516,93	3299±446,82 -
MDA	3,03±0,31	2,56±0,37 -

(-) p > 0,05: Veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Kaynaklar

Aebi HE, 1983: Catalase in: H.U.Bermeyer (Hrsy). Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie; Weinheim, Bd. III, 273-286.

Buege, JA, Aust, S.D, 1978: Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol I, 52: 302-10.

Dede S, Değer Y, Kahraman T, Değer S, Alkan M, Cemek M, 2002: Oxidation Products of Nitric Oxide and the Concentrations of Antioxidant Vitamins in Parasitized Goats. Acta Vet Brno, 71: 341-345.

Değer S, Değer Y, Ertekin A, Gül A, Biçek K, Özdal N, 2008: *Dictyocaulus viviparus* ile Enfekte Sığırlarda Lipit Peroksidasyon ve Antioksidan Durumunun Saptanması. Türkiye Parazitoloj Derg, 32 (3): 234 – 237.

Değer Y, Ertekin A, Değer S, Mert H, 2008: Lipid Peroxidation and Antioxidant Potential of Sheep Liver Infected Naturally with Distomatosis. Türkiye Parazitoloj Derg, 32(1): 23-26.

- Kılıç E, Yazar S, Saraymen R, Özbilge H, 2004: Serum Lipid Peroxidation Level in Patients with *Taenia saginata*. Türkiye Parazitoloj Derg, 28 (2): 91-93.
- Kozan E, Avcı G, Kırcalı Sevimli F, Fatih Mehmet Birdane FM, Köse M, 2010: Askaridiozisli ve tedavi edilmiş köpeklerde antioksidan düzeylerinin ve bazı biyokimyasal parametrelerinin incelenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 57: 93-97.
- Paglie DE, Valantine WN, 1967: Studies on Qualitative and Quantative Characterization of Eeythrocyte Glutathion Peroxidase. J.Lab.Clin. Met., 70: 158-169.
- Sokal RR, and FJ, Rohlf, 1995: Biometry; The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3nd Ed., W.H., Freeman&Co.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y, 1988: A simple for clinical assay of superoxide dismutase. Clin. Chem., 34: 497-500.
- Şahin A, Akkan HA, Gül A, Karaca M, Türel İ, 2009: *Trichostrongylidae spp.* ile Doğal Enfekte Koyunlarda Moxidectin ve Doramectinin Etkinliği YYU Vet Fak Derg, 20 (1): 57 – 59.
- Tietz W.N. 1987: Measurement of plasma hemoglobin. Fundamental of Clinical Chemistry.Saunders Company. 805-806.
- Urquart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW, 1996: Veterinary Parasitology. 2nd Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp 270.
- Winterbourn, CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W, 1975: The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med, 55: 337-341.
- Yarsan E, Tanyüksel M, Babür C, Kutlu İ, 1999: Albendazol'un Hümorale ve Hücresele İmmun Yanıt Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. Türk Hij Den Biyol Derg, 56 (2): 67-74.
- Yüksek N, Altuğ N, Gül A, 2007: Koyunlarda Endoparazit Enfeksiyonlarında Triklabendazol - Levamizol Kombinasyonunun Tedavi Etkinliği. YYÜ Vet Fak Der,18(1):19-24.

***Yazışma Adresi:**

Güzin ÖZKURT

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

Biyokimya Anabilim Dalı,

Eyyübiye Yerleşkesi, 63200 ŞANLIURFA

e-mail: oguzalperen@hotmail.com