

Şap Hastalıklı Besi Sığırlarında Salya ve Eritrosit Arginaz Aktiviteleri

Mustafa İSSİ¹ Fatih Mehmet KANDEMİR² Onur BAŞBUĞ¹
Yusuf GÜL¹ Necmi ÖZDEMİR²

¹ Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Elazığ, Türkiye

² Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Elazığ, Türkiye

Geliş tarihi: 02.04.2010

Kabul Tarihi: 15.04.2010

ÖZET

Bu çalışmada şap hastalığı teşhisi konan sığırların salya ve eritrosit arginaz aktivitelerinin belirlenmesi ve hastalıkta bu enzim aktivitesinin belirleyici bir özelliğinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. On sağlıklı (kontrol grubu) ve 10 şap hastalıklı olmak üzere toplam 20 besi sığırı araştırma materyalini oluşturdu. Eritrosit ve salyadaki arginaz aktivitesi tiyosemikarbazid-diasetilmonoksime üre (TDMU) metodu kullanılarak ölçüldü. Eritrosit hemoglobinin miktarı siyanomethemoglobin oluşumu esasına dayalı Drabkin yöntemi, salyadaki protein miktarı ise Lowry metoduna göre saptandı. Sonuç olarak; şap hastalıklı sığırların eritrosit ve salya arginaz aktiviteleri kontrol gurubundaki hayvanlara göre önemli derecede ($P<0.05$) yüksek bulundu.

Anahtar Kelimeler

Şap hastalığı, Sığır, Salya, Eritrosit, Arginaz aktivitesi

Saliva and Erythrocyte Arginase Activity in Beef Cattle with Foot-and-Mouth Disease

SUMMARY

In this study, it was aimed at determining saliva and erythrocyte arginase activity in beef cattle with foot-and-mouth disease and investigating whether this enzyme activity has a determining feature. A total of 20 cattle including 10 healthy beef cattle (control group) and 10 diseased beef cattle with foot-and-mouth disease (patient group) were used as materials. The thiosemicarbazide-diacetylmonoxime urea (TDMU) method was used to measure arginase in saliva and erythrocyte. Erythrocyte haemoglobin amounts were measured through Drabkin method based on cyanomethaemoglobin production while protein amount in saliva is measured through Lowry method. In conclusion, in patient group according to control group; saliva and erythrocyte arginase activity ($P<0.05$) were higher.

Key Words

Foot-and-Mouth Disease, Beef cattle, Saliva, Erythrocyte, Arginase activity

GİRİŞ

Şap hastalığı *Picornaviridae* ailesinden *Aphthovirus*'un neden olduğu evcil ve yabani çift tırnaklı hayvanların (özellikle sığır ve domuzlar) ağız, meme ve interdijital bölgelerinde vezikül, erozyon ve ülserlerle karakterize çok bulaşıcı, akut seyirli, ateşli viral bir hastalıktır (Anon. 2007; Smith 2009).

Dünyanın değişik bölgelerinde zaman zaman salgınlar şeklinde görülen hastalık Türkiye'de de alınan tüm tedbirlere rağmen hemen hemen her yıl muhtelif bölgelerde ve hatta bazen tüm yurttan görülmektedir (Aytuğ ve ark. 1991; Gül 2006).

Özellikle kültür ırkı sığırlar ile genç buzağı ve kuzularda miyokarditise bağlı ani ölümlerin görülmesi yanında verim kaybı (et ve süt verimi), tedavi ve koruyucu aşılama giderleri nedeniyle önemli ölçüde ekonomik kayıplar oluşmaktadır (Anon. 2007; Aytuğ ve ark. 1991; Gül 2006; Smith 2009).

İlk defa 1904 yılında Kossel ve Dakin tarafından keşfedilen arginaz enzimi (L-arginin amidinohidrolaz, E.C. 3.5.3.1) sitoplazmik enzim olup (Colombo ve Konarska 1984), üre döngüsünün son basamağında L-arginini üre ve ornitine

parçalar (Cook ve ark. 1994).

Arginaz enziminin esas kaynağı memeli karaciğeri olmasına rağmen daha düşük miktarlarda böbrek, kalp kası, bağırsak, akciğer, dalak, beyin ve iskelet kası gibi ekstra hepatik dokularda da bulunmuştur (Kandemir ve Özdemir 2009). Enzim, üre döngüsü bulunmayan ekstra hepatik dokularda poliamin sentezi ve protein biyosentezi için gerekli olan prolinin sentezinde görev alır (Guoyao ve Morris 1998).

Hayvan hücrelerinde çok yönlü bir amino asit olan arginin sadece proteinlerin sentezinde prekürsör olmayıp aynı zamanda nitrik oksit, üre, poliaminler, prolin, glutamat, kreatin ve hücre homeostazinin düzenlenmesini kapsayan moleküllerin sentezinde rol oynadığı bildirilmiştir (Guoyao ve Morris 1998). L-argininin; nitrik oksit sentaz enzimi tarafından nitrik oksite, arginaz tarafından ise üre döngüsünün son basamağında üre ve ornitine hidrolize edildiği ve yangısal olaylarda bu iki yolun yarışma halinde olduğu belirtilmektedir (Cook ve ark. 1994). Nitrik oksit virüslerin birçok tipi tarafından meydana getirilen enfeksiyonlarda hücresel cevapların silahlandırılmasında en önemli silahlardan biri olduğu ifade edilmektedir (Bi ve Reis 1995; Benencia ve Courreges 1999). Ayrıca hem DNA hem de RNA virüslerde antiviral özelliği olan nitrik oksidin

viral RNA sentezini engellemesi, viral protein birikimi ve virüsün serbest bırakılmasında rol oynadığı da rapor edilmiştir (Lin ve ark. 1997; Xing ve Schat 2000; Akerstrom ve ark. 2005; Charnsilpa ve ark. 2005).

Arginaz enziminin birçok metabolik özelliklere sahip olduğu, bazı parazitler ve enfeksiyöz hastalıklarda (Bachetti ve ark. 2004; Mohamed ve ark. 2005; Cuerov ve ark. 2008) ve yangısal olaylarda arginaz aktivitesinin artabileceği bildirilmiştir (Bachetti ve ark. 2004). Ayrıca yara bölgesindeki arginaz aktivitesinin yangı ve enfeksiyonlarda dokuların iyileşmesinde rol oynadığı ifade edilmiştir (Guoyao ve Morris 1998).

Argininin özellikle kalıtsal ve edinsel bağışıklıkta önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Wu ve Meininger 2002).

Agarwal ve ark. (1984), hastalıkların erken safhasında salya arginaz aktivitesi ve salyanın protein içeriğinin protein enerji malnutrisyonunun bir indeksi olarak kullanılabilceği bildirmişlerdir.

Siğirilerin viral hastalıklarında salya ve eritrosit arginaz aktiviteleri üzerine herhangi bir çalışma bulunmadığından şap hastalığı teşhisi konan siğirilerde salya ve eritrosit arginaz aktivitelerinin belirlenmesi ve hastalıkta bu enzim aktivitesinin belirleyici bir özelliğinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Elazığ Yurtbaşı beldesinde bir aile işletmesinde bulunan, klinik muayenede şap hastalığı teşhisi konan, Montafon ırkından 1-2 yaşlarında 10 erkek siğir (Hasta Grubu) ile aynı beslenme koşullarına (arpa ağırlıklı rasyon) sahip klinik muayenede sağlıklı oldukları belirlenen benzer özellikteki 10 siğir (Kontrol Grubu) olmak üzere toplam 20 besi siğiri araştırma materyalini oluşturdu. Şap hastalıklı siğirilerin Elazığ Tarım İl Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Şubesi'ne ihbarı yapıldı ve Şap Enstitüsünce etkenin O tipi şap virusu olduğu belirlendi.

Sistemik klinik muayeneleri yapılan tüm hayvanlardan salya ve eritrosit arginaz enzim aktivitesi analizleri için

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubundaki besi siğirilerinin salya ve eritrosit arginaz aktiviteleri

Table 1. Saliva and erythrocyte arginase activity of beef cattle in patient group and control group

Parametre	n	Kontrol grubu ($\bar{X} \pm S \bar{X}$)	Hasta grubu ($\bar{X} \pm S \bar{X}$)	Önem derecesi
Salya arginaz aktivitesi (U/mg protein)	10	7.15 \pm 0.18 (6.4 - 7.9)	11.30 \pm 0.36 (10 - 13)	*
Eritrosit arginaz aktivitesi (U/g hemoglobin)	10	87.40 \pm 4.08 (64 - 101)	139.10 \pm 10.00 (73 - 171)	*

*: P<0.05

TARTIŞMA ve SONUÇ

Şap hastalığının seyri ve klinik belirtilerin teşhis için yeterli olduğu ancak tip tayini için marazi madde gönderilmesi gerekmektedir (Aytuğ ve ark. 1991; Smith 2009). Hasta gurubundaki hayvanlardan Şap Enstitüsüne gönderilen marazi maddelerin analizinde etkenin O tipi şap virusu olduğu belirlenmiştir. Araştırma hayvanlarında saptanan klinik semptomların şaplı siğirilerde bildirilen (Aytuğ ve ark. 1991; Anon. 2007; Gül 2006; Smith 2009) klinik bulgular ile tamamen uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir.

Schimke (1982)'nin yaptığı çalışmada, fazla karbonhidrat alımında üre döngüsü enzimlerinin azaldığı, karbonhidrat alımının azaldığında da üre döngüsü enzimlerinin arttığı bildirilmektedir. Bu bildirimle (Schimke 1982) uyumlu olarak hasta grubundaki hayvanların ağızlarındaki

salya ve *V. jugularis*'ten heparinli tüplere kan örnekleri alındı. Kan örnekleri santrifüj edilerek plazması ayırdıktan sonra üç kez serum fizyolojik (%0.9'luk NaCl) ile yıkılarak izole edilen eritrositler enzim kaynağı olarak kullanıldı. Örnekler analiz edilinceye kadar -20°C'de saklandı.

Eritrosit ve salyadaki arginaz aktivitesi TDMU metodu kullanılarak ölçüldü (Geyer ve Dabich 1971). Diasetilmonoksim, üre ile direk reaksiyona girmez. Önce asit ortamda ısının etkisiyle diasetil ve hidroksilamine hidroliz olur. Diasetil, asit solüsyonda üre ile kondanse olarak sarı renkli bileşik olan Diazin'i meydana getirir. Oluşan sarı rengi kararlı kılmak için Tiyosemikarbazid ve Fe⁺² iyonları kullanılır (Kaplan 1987). Eritrosit hemoglobinin miktarı siyanomethemoglobin oluşumu esasına dayalı Drabkin (Frankel ve ark. 1970) yöntemi, salyadaki protein miktarı ise Lowry (Lowry ve ark. 1951) metoduna göre ölçüldü.

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde "SPSS 13.0 for Windows" (SPSS Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Veriler aritmetik ortalama ve standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arasındaki önemliliklerin tespitinde t-testinden faydalanıldı.

BULGULAR

Hasta grubundaki hayvanların anamnezinden yaklaşık 4-5 günden beri iştahsız, durgun, aşırı salya akıntısı ve ateşlerinin olduğu öğrenildi. Klinik muayene sonrasında yüksek ateş, ağız şapırdatması ve salya akıntısı ile ağızda özellikle dil üzerinde bazı hayvanlarda ise trnack arasında vezikül ve erozyonların olduğu tespit edildi.

Her iki gruptaki hayvanların salya ve eritrosit arginaz aktivitelerinin aritmetik ortalamaları ve minimum ve maksimum değerleri ile gruplar arasındaki farklılıkların önemi Tablo 1'de verildi.

lezyonlar nedeniyle yem alımlarının azalmasına bağlı olarak salya ve eritrosit arginaz aktivitesinin kontrol grubundaki hayvanlara göre istatistiksel olarak önemli derecede (P<0.05) yüksek olduğu belirlenmiştir. Salyada arginaz aktivitesinin artışının hastalığın başlangıç döneminde sindirim bozukluğunun bir indeksi olarak kullanılabilceğini ifade eden literatürü (Agarwal ve ark. 1984) destekler niteliktedir.

Memelilerde, kuşlarda ve karasal hayvanlar ile omurgasızlarda virus, bakteri, mantar, kanser hücresi, intrasellüler protozoa ve parazitlere karşı argininin savunma için gerekli olduğu tespit edilmiştir (Li ve ark. 2007). Leu ve Wang (1992), kanserli hastalarda hücre immunitesinin zayıflamasına artmış arginaz aktivitesinin immunsupresif etkisinin neden olduğunu belirtmişlerdir. Argininin ise lenfosit proliferasyonu ve gelişmesi için

gerekliliği ve diyetle arginin ilavesinin immun cevabı artırdığı bildirilmektedir (Li ve ark. 2007).

Sonuç olarak; şap hastalıklı sığırların eritrosit ve salya arginaz aktivitesi kontrol gurubundaki hayvanlara göre önemli derecede ($P<0.05$) yüksek olması nedeniyle şap hastalıklı sığırların eritrosit ve salya arginaz aktiviteleri artışının hastalık için belirleyici bir özellikte olabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- Agarwal PK, Agarwal KN, Agarwal DK (1984).** Biochemical changes in saliva of malnourished children. *Am J Clin Nutr*, 39 (2), 181-184.
- Akerstrom S, Mousavi-Jazi M, Klingstrom J, Leijon M, Lundkvist A, Mirzami A (2005).** Nitric oxide inhibits the replication cycle of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol*, 79, 1966-1969.
- Anon. (2007).** Foot and mouth disease, September 24, 2007, Web erişimi: www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/foot_and_mouth_disease.pdf, Erişim tarihi: 10 Mart 2010.
- Aytuğ CN, Alaçam E, Görgül S, Gökçen H, Tuncer ŞD, Yılmaz K (1991).** Sığır hastalıkları. Revize edilmiş ve genişletilmiş ikinci baskı. Tüm Veteriner Hayvancılık ve Veteriner Hizmetleri San Tic Ltd Şti Yayın No: 3, İstanbul.
- Bachetti T, Comini L, Francolini G, Bastianon D, Valetti B, Casdei M, Grigolato PG, Suzuki H, Finazzi D, Albertini A, Curello S, Ferrari R (2004).** Arginase pathway in human endothelial cells in pathophysiological conditions. *J Mol Cell Cardiol*, 37 (2), 515-523.
- Benenica F, Courreges MC (1999).** Nitric oxide and macrophage antiviral extrinsic activity. *Immunology*, 98, 363-370.
- Bi Z, Reis CS (1995).** Inhibition of vesicular stomatitis virus infection by nitric oxide. *J Virol*, 69, 2208-2213.
- Charnsilpa W, Takhampanya R, Endy TP, Mammen MP Jr, Libraty DH, Ubol S (2005).** Nitric oxide radical suppresses replication of wild-type dengue 2 viruses in vitro. *J Med Virol*, 77, 89-95.
- Colombo JP, Konarska L (1984).** Arginase. In: Methods of enzymatic analysis, Bergmeyer HU (Ed), 3rd ed, 285-294, Verlag Chemie, Weinheim.
- Cook HT, Jansen A, Lewis S, Largen P, O'Donnell M, Reaveley D, Cattel V (1994).** Arginine metabolism in experimental glomerulonephritis: Interaction between nitric oxide synthase and arginase. *Am J Physiol*, 267 (4 Pt 2), F646-653.
- Cuervo H, Pineda MA, Aoki MP, Gea S, Fresno M, Girones N (2008).** Inducible nitric oxide synthase and arginase expression in heart tissue during acute trypanosoma cruzi infection in mice: arginase I is expressed in infiltrating CD68+ macrophages. *J Infect Dis*, 197 (12), 1772-1782.
- Frankel S, Reitman S, Sonnenwirth AC (1970).** Grandwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. Seventh edition, The CV Mosby Company, Saint Lewis.
- Geyer JW, Dabich D (1971).** Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem*, 39 (2), 412-417.
- Guoyao WU, Sidney M. Morris JR (1998).** Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J*, 336, 1-17.
- Gül Y (2006).** Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları (Sığır, Koyun-Keçi). II. Baskı. Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya.
- Kandemir FM, Özdemir N (2009).** Koyun dalak doku arginazının bazı kinetik özellikleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 15 (4), 553-559.
- Kaplan LA (1987).** Urea. "Methods in Clinical Chemistry". Pesce AJ, Kaplan LA (Eds). The CV Mosby Company, Toronto. pp 22-27.
- Leu SY, Wang SR (1992).** Clinical significance of arginase in colorectal cancer. *Cancer*, 70 (4), 733-736.
- Li P, Yin YL, Li DF, Kim SW, Wu G (2007).** Amino acids and immune function. *Br J Nutr*, 98, 237-252.
- Lin YL, Huang YL, Ma SH, Yeh CT, Chiou SY, Chen LK, Liao CL (1997).** Inhibition of Japanese encephalitis virus infection by nitric oxide: antiviral effect of nitric oxide on RNA virus replication. *J Virol*, 71, 5227-5235.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951).** Protein measurements with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193 (1), 265-275.
- Mohamed SA, Fahmy AS, Mohamed TM, Hamdy SM (2005).** Urea cycle of Fasciola gigantica: Purification and characterization of arginase. *Comp Biochem Phys B*, 142 (3), 308-316.
- Remond M, Kaiser C, Lebreton F (2002).** Diagnosis and screening of foot-and-mouth disease. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 25, 309-320.
- Schimke RT (1982).** Adaptive characteristics of urea cycle enzymes in the rat. *J Biol Chem*, 237 (2), 459-468.
- Smith BP (2009).** Large Animal Internal Medicine. 4th ed. Mosby, Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Wu G, Meininger CJ (2002).** Regulation of nitric oxide synthesis by dietary factors. *Ann Rev Nutr*, 22, 61-86.
- Xing Z, Schat KA (2000).** Inhibitory effects of nitric oxide and gamma interferon on in vitro and in vivo replication of Marek's disease virus. *J Virol*, 74, 3605-3612.