



## Kazeöz Lenfadenitise Karşı Aşılana Kuzularda E Vitamini ve Selenyum Kombinasyonunun Oksidatif Cevap Üzerine Etkileri\*

Kayacan SEYRANOĞLU<sup>1</sup>, Öznur ASLAN<sup>2</sup>

1. Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Pınarbaşı, Kayseri, TÜRKİYE.
2. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
09.04.2015	13.06.2015	20.12.2015

**Öz:** Çalışmada, kazeöz lenfadenitise (KLA) karşı aşılana kuzularda E vitamini ve selenyum (Se) kombinasyonunun oksidatif cevap üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, 2 aylık, 40 adet sağlıklı ve KLA'ya karşı aşılana Akkaraman ırkı kuzu kullanıldı. Kuzular rastgele dört eşit gruba ayrıldı; Grup I: Kontrol, Grup II: Aşı, Grup III: E vitamini+Se, Grup IV: Aşı+E vitamini+Se. Kuzulardan 0. ve 21. günlerde kan örnekleri alındı. Oksidatif cevabı ölçmek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ölçüldü. Günler arası değerler karşılaştırıldığında; MDA seviyesi değişmedi ( $P>0.05$ ); GSH-Px ( $P<0.05$ ) ve NO ( $P<0.001$ ) tüm gruplarda düştü; SOD Grup I'de diğer gruplara göre yükselme gösterdi ( $P<0.05$ ), CAT ise Grup I, II ve IV'te düştü ( $P<0.001$ ). Gün içi değerler karşılaştırıldığında; GSH-Px aktivitesi ile MDA ve NO düzeylerinde fark tespit edilmedi ( $P>0.05$ ). 0. günde CAT aktiviteleri bakımından, Grup III ile Grup I, II, IV arasındaki fark önemli bulundu ( $P<0.05$ ). 21. günde diğer gruplara göre, Grup I'de SOD aktivitesi daha yüksek ( $P<0.05$ ), CAT aktivitesi ise daha düşük ( $P<0.05$ ) bulundu. Sonuç olarak; kazeöz lenfadenitise karşı aşılana Akkaraman ırkı kuzularda, uygulanan dozda E vitamini+Se kombinasyonunun SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ile MDA ve NO düzeyleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** E vitamini, Kazeöz lenfadenitis, Kuzu, Oksidatif cevap, Selenyum.

## Effects of Vitamin E and Selenium Combination on Oxidative Response in Lambs Vaccinated Against Caseous Lymphadenitis

**Abstract:** The objective of this study was to investigate the effects of vitamin E and selenium (Se) combination on the oxidative response in lambs vaccinated against caseous lymphadenitis (CLA). For this purpose, 40 healthy female Akkaraman lambs, aged two-month-old, unvaccinated against the CLA were used. Lambs were randomly divided into 4 equal groups. Group I: Control, Group II: Vaccine; Group III: Vitamin E+Se; Group IV: Vaccine + Vitamin E+Se. Blood samples were collected from the lambs on days zero and 21<sup>st</sup>. In order to determine the oxidative response, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) activities, as well as malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels were measured. When the values between days zero and 21<sup>st</sup> compared: the MDA levels showed no change ( $P>0.05$ ); the GSH-Px ( $P<0.05$ ) and NO ( $P<0.001$ ) decreased in all groups; the SOD activity increased in Group I ( $P<0.05$ ) as compared to other groups while the CAT activity decreased in Group I, II and IV ( $P<0.001$ ). When the values within the same day compared; the GSH-Px activity, the MDA and NO levels showed no difference ( $P>0.05$ ). On day zero, the CAT activity showed significant difference between Group III and Group I, II and IV ( $P<0.05$ ). On day 21<sup>st</sup>, the SOD activity in Group I was higher ( $P<0.05$ ) while the CAT activity was lower ( $P<0.05$ ) than those in other groups. In conclusion, in Akkaraman lambs vaccinated against caseous lymphadenitis, the administered dose of vitamin E+Se combination had no marked effect on the SOD, CAT, GSH-Px activities as well as the MDA and NO levels.

**Keywords:** Caseous lymphadenitis, Lamb, Oxidative response, Selenium, Vitamin E.

<sup>✉</sup> Kayacan SEYRANOĞLU

Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Pınarbaşı, Kayseri, TÜRKİYE.

e-posta: kseyranoglu@gmail.com

\* Bu çalışma, Kayacan SEYRANOĞLU'nun EUBAP tarafından TSD-12-3811 proje kodu ile desteklenen, "Kazeöz Lenfadenitise Karşı Aşılana Kuzularda E Vitamini ve Selenyum Kombinasyonunun Oksidatif Cevap Üzerine Etkileri" başlıklı Doktora Tezinin bir kısmından özetlenmiştir.

## GİRİŞ

**C** *orynebacterium pseudotuberculosis* koyunlarda kazeöz lenfadenitis (KLA) hastalığının etkenidir (1,2). Deride oluşan apseler deri kalitesini ve yapağı verimini olumsuz etkilemekte, iç organlarda oluşan lezyonlar hayvanlarda verimin azalmasına yol açarak koyunculuk endüstrisinde önemli kayıplara neden olmaktadır (3-5).

Oksidatif stres, hücrelerde çeşitli hasarlara yol açan reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (6,7). Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve biyomoleküller ile reaksiyona girme eğilimi gösteren reaktif moleküllerdir (7). Organizmada doğal süreçler sonucunda meydana gelen ROT ile antioksidan moleküller arasındaki denge ROT lehine değiştiğinde hücrede oksidatif stres ve bunun sonucunda patolojik bozukluklar meydana gelir (6). Oksidatif strese karşı mücadele, vücudun her yerindeki farklı hücre yapılarında, karmaşık antioksidan mekanizmalar ile durmaksızın hayat boyu devam eder (6,7).

Çalışmamızda, saha şartlarında, KLA'ya karşı bakterin ve toksoid kökenli bir monovalan aşıyla aşılanan kuzularda, aşılamayla birlikte tek doz deri altı E vitamini ve Se kombinasyonunun (100 IU E Vitamini + 1.03 mg Se) oksidatif cevap üzerindeki etkisi incelendi. Bu amaçla malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve nitrik oksit (NO) ölçümleri yapıldı.

## MATERYAL ve METOT

Çalışma materyali olarak, Kayseri İli Pınarbaşı İlçesi Avşarpotuklu Mahallesi yaylasında yetiştirilen 40 adet sağlıklı ve 2 aylık dişi Akkaraman ırkı kuzu kullanıldı. Çalışmaya daha önce KLA'ya karşı aşılanmamış kuzular dahil edildi.

Çalışma kapsamına alınan hayvanlar, her biri 10 hayvandan oluşan rastgele 4 eşit gruba ayrıldı: Grup I: Kontrol, Grup II: Aşı, Grup III: E vitamini+Se, Grup

IV: Aşı + E vitamini + Se. Grup I'e % 0.09 NaCl solüsyonundan 2 ml deri altı yolla uygulandı ve bu grup kontrol grubu olarak ayrıldı. Grup II'ye bakterin ve toksoid içeren detoksifiye ve purifiye aşından koltukaltı bölgesinden deri altı yolla 2 ml dozunda uygulandı. Grup III'deki kuzulara, sadece Se ve E vitamini içeren solüsyondan 1 ml (100 mg vitamin E asetatı eşdeğer 100 I.U. Vitamin E ve 1.03 mg saf selenyuma eşdeğer 3.0 mg sodyum selenit/1 ml çözelti) koltukaltı bölgesinden deri altı yolla uygulandı. Grup IV'deki hayvanlara 2 ml aşı ile Se ve E vitamini içeren solüsyondan koltuk altı bölgesinden deri altı yolla 1 ml dozunda uygulandı. Hayvanlar çalışma boyunca aynı bakım ve beslenme şartlarında tutuldu.

## Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi

Gruplarda bulunan tüm hayvandan uygulama öncesi 0. günde ve uygulamadan sonraki 21. günde *Vena jugularis* yoluyla lityum heparinli ve kuru tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden hazırlanan serum, plazma ve eritrosit örnekleri analize kadar -80°C 'de saklandı.

## Eritrositlerin Hemoliz Edilmesi

Eritrosit numuneleri analiz öncesi oda ısısında tutularak çözdürüldü. Oda ısısındaki eritrosit örneklerinden otomatik pipet yardımıyla 0.8 ml alındı ve üzerine 3.2 ml soğuk distile su ilave edilip hızla karıştırılarak eritrositler hemolize edildi. Elde edilen hemolizat, hemoglobin (Hb), CAT ve GSH-Px aktivitesi ölçümü için kullanıldı. Hemolizattan 300 ml alınarak ayrı bir ependorf tüpüne konuldu üzerine 1200 ml kloroform-etanol karışımı (3:5 oranında hazırlanmış) ilave edildi. Tüpler 30 saniye vortekslendi, ardından 3000 rpm/2000 g devirde 24°C sıcaklıkta 10 dakika süreyle santrifüj edildi ve üst kısım SOD aktivitesi ölçümü için kullanıldı.

Eritrosit Hb düzeyi Fairbanks ve Klee (8), plazma MDA düzeyi Yoshioka ve ark., (9) ve NO aktivitesi Tracey ve ark., (10), eritrosit SOD aktivitesi Sun ve

ark., (11), CAT aktivitesi Luck (12), GSH-Px aktivitesi Paglie ve Valentie (13) tarafından bildirilen yöntemlere göre belirlendi.

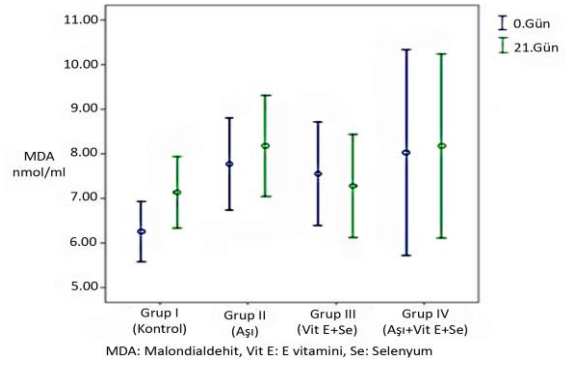
### İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki verilerin istatistiksel önemliliklerinin analizinde, genel doğrusal model-tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Çalışmada veriler aritmetik ortalama ve standart sapma ( $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ ) olarak ifade edildi ve  $P < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizlerde SPSS 13.00 istatistik programı kullanıldı.

### BULGULAR

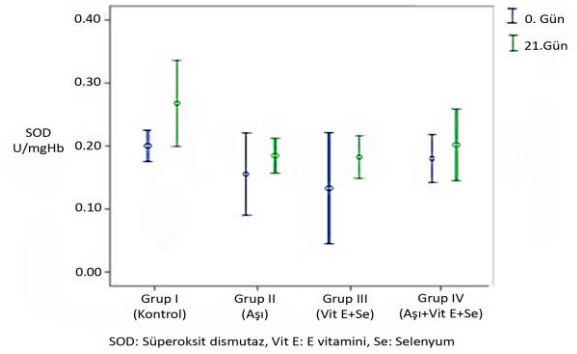
Aynı gün içinde, gruplar arası değerler karşılaştırıldığında; MDA düzeyi bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmedi ( $P > 0.05$ ) (Tablo 1). SOD aktivitesinde, 21. günde Grup I ile diğer gruplar arasında tespit edilen fark istatistik açıdan önemli bulundu ( $P < 0.05$ ) (Tablo 1). CAT aktivitesi açısından 0. günde Grup III ile Grup I, II, IV arasında, 21. günde ise Grup I ile diğer gruplar arasındaki fark önemli bulundu ( $P < 0.05$ ) (Tablo 1). Aynı günde GSH-Px aktivitesinde ve NO düzeyinde gruplar arasında önemli bir fark tespit edilmedi ( $P > 0.05$ ) (Tablo 1).

Grup içi 0. gün ile 21. gün değerleri karşılaştırıldığında; MDA düzeylerinde önemli bir değişim tespit edilmedi ( $P > 0.05$ ) (Tablo 1, Şekil 1). Grup I'de SOD aktivitesinde meydana gelen artış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $P < 0.05$ ) (Tablo 1, Şekil 2). CAT aktivitesinde Grup I, II ve IV'de meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli bulundu ( $P < 0.001$ ) (Tablo 1, Şekil 3). Tüm gruplarda GSH-Px aktivitesinde ( $P < 0.05$ ) (Tablo 1, Şekil 4) ve NO düzeyinde ( $P < 0.001$ ) (Tablo 1, Şekil 5) meydana gelen azalma istatistik açıdan önemli bulundu.



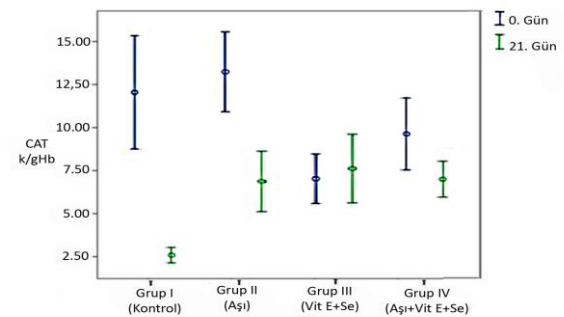
Şekil 1. MDA düzeyinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.

Figure 1. Error-Bar graphic of MDA level according to groups and days.



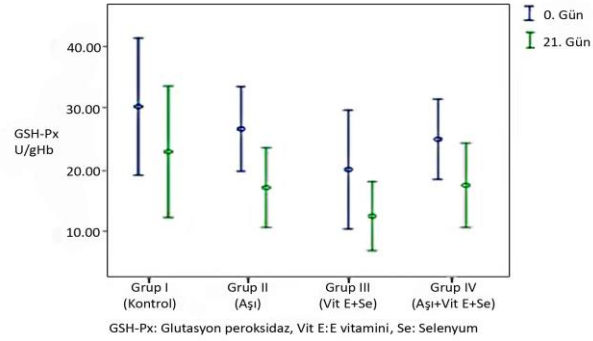
Şekil 2. SOD aktivitesinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.

Figure 2. Error-Bar graphic of SOD activity according to groups and days.

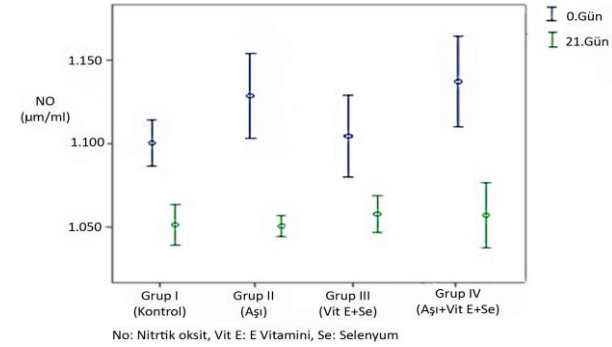


Şekil 3. CAT aktivitesinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.

Figure 3. Error-Bar graphic of CAT activity according to groups and days.



**Şekil 4.** GSH-Px aktivitesinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.  
**Figure 4.** Error-Bar graphic of GSH-Px activity according to groups and days.



**Şekil 5.** NO düzeyinin grup ve günlere göre Error-Bar grafiği.  
**Figure 5.** Error-Bar graphic of NO level according to groups and days.

**Tablo 1.** SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ile MDA ve NO düzeylerinin gruplar ve günlere göre istatistiksel önemi.

**Table 1.** Statistical significance of the SOD, CAT, GSH-Px activities as well as of the MDA and NO levels according to groups and days.

GRUPLAR	n	MDA (nmol/ml)		SOD (U/mgHb)		CAT (k/gHb)		GSH-Px (U/gHb)		NO (µm/ml)	
		0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün	0. Gün	21. Gün
Grup I Kontrol	10	6.25±0.29 <sup>Aa</sup>	7.13±0.35 <sup>Aa</sup>	0.20±0.01 <sup>Aa</sup>	0.26±0.03 <sup>Ab</sup>	12.04±1.45 <sup>Aa</sup>	2.58±0.19 <sup>Ab</sup>	30.53±4.94 <sup>Aa</sup>	23.18±4.73 <sup>Ab</sup>	0.10±0.006 <sup>Aa</sup>	0.05±0.005 <sup>Ab</sup>
Grup II Aşı	10	7.77±0.45 <sup>Aa</sup>	8.17±0.50 <sup>Aa</sup>	0.15±0.02 <sup>Aa</sup>	0.18±0.01 <sup>Ba</sup>	13.24±1.02 <sup>Aa</sup>	6.87±0.77 <sup>Bb</sup>	27.02±3.05 <sup>Aa</sup>	17.22±2.87 <sup>Ab</sup>	0.12±0.01 <sup>Aa</sup>	0.05±0.003 <sup>Ab</sup>
Grup III VitE+Se	10	7.55±0.51 <sup>Aa</sup>	7.27±0.51 <sup>Aa</sup>	0.13±0.03 <sup>Aa</sup>	0.18±0.01 <sup>Ba</sup>	7.02±0.63 <sup>Ba</sup>	7.61±0.88 <sup>Ba</sup>	20.92±4.27 <sup>Aa</sup>	12.83±2.48 <sup>Ab</sup>	0.10±0.01 <sup>Aa</sup>	0.05±0.005 <sup>Ab</sup>
Grup IV Aşı+VitE+ Se	10	8.02±1.02 <sup>Aa</sup>	8.17±0.91 <sup>Aa</sup>	0.18±0.01 <sup>Aa</sup>	0.20±0.02 <sup>Ba</sup>	9.63±0.92 <sup>ABa</sup>	6.99±0.46 <sup>Bb</sup>	25.35±2.88 <sup>Aa</sup>	17.85±3.03 <sup>Ab</sup>	0.13±0.01 <sup>Aa</sup>	0.05±0.009 <sup>Ab</sup>

MDA: Malondialdehit, SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GSH-Px: Glutatyon peroksidaz, NO: Nitrik oksit, Vit E: E vitamini, Se: Selenyum, n: denek sayısı

<sup>A,B,C</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

<sup>a,b,c</sup>: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmada, KLA'ya karşı aşılanan kuzularda, aşılamayla birlikte Se ve E vitamininin kombine olarak uygulanmasının oksidatif cevap üzerine etkileri incelendi. Bu amaçla uygulamadan önce ve uygulamadan 21 gün sonra plazma MDA ve NO düzeyleri ile eritrosit SOD, GSH-Px ve CAT aktiviteleri belirlendi.

Literatürde MDA düzeyinin hastalık ve stres şartlarında yükseldiğinin bildirildiği çalışmalar olmasına rağmen (14,15), KLA'ya karşı aşılama sonrası MDA düzeyleri ile bağışıklık arasında ilişkinin incelendiği bir çalışma bulunamadı. Kızıl ve Gül (16), besi sığırlarında yaptıkları denemede A grubuna sadece trivalan şap aşısı (Tip A, O ve Asia 1), B grubuna şap aşısı + aşılama sonrası ve sonrası 3. günde C vitamini; C grubuna şap aşısı + aşılama sırasında AD<sub>3</sub>E vitamini ve D grubuna şap aşısı + aşılama sonrası AD<sub>3</sub>E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uygulamışlardır. Araştırmacılar tarafından yapılan vitaminlerin antioksidan etkileri ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilgili bu çalışmada, şap aşısı + aşılama sırasında AD<sub>3</sub>E vitamini uyguladıkları A grubu ile şap aşısı + aşılama sonrası AD<sub>3</sub>E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uyguladıkları C grubunda 0. ile 21. gün ortalamaları karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde meydana gelen artış önemli bulunmuştur. Çalışmamızdaki grupların 0.gün ile 21.gün değerleri karşılaştırıldığında, MDA düzeyleri açısından güne bağlı istatistiksel olarak önemli bir değişim tespit edilmedi (P>0.05). Bunun nedeni çalışmamızda tek suş içeren inaktif bir aşı kullanılmış olması nedeniyle kullanılan aşının oksidan/antioksidan dengede önemli bir değişime yol açmadığına bağlandı.

Katalaz enzimi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi oksijen ve suya parçalar, böylece hücreleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye bağlı oksidatif hasara karşı korur (17-20). Kızıl ve Gül (16) tarafından besi sığırlarında şap aşılması sonrası vitaminlerin antioksidan etkileri ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmada, sadece trivalan şap aşısı uygulanan A grubunda, şap aşısı + aşılama sonrası ve sonrası 3. günde C vitamini uygulanan B grubunda ve

şap aşısı + aşılama sonrası AD<sub>3</sub>E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uygulanan D grubunda 0. ile 21. gün ortalamaları karşılaştırıldığında CAT aktivitelerinde önemli artışlar tespit edilmiştir. Çalışmamızda, I, II ve IV. Gruplarda CAT aktivitesinde önemli bir düşüş belirlendi (P<0.001). CAT aktivitesinde aşı uygulanan gruplardaki bu düşüş, immun sistemin aktivasyonu sırasında CAT üretiminin azaldığını ya da aşılama nedeniyle oluşan oksidatif cevabın etkilerinin azaltılması için rezerv CAT enzimlerinin kullanılmış olabileceğini; CAT aktivitesindeki düşüşün Grup IV'de Grup I ve II'ye göre daha az olması ve Grup III'de düşüş olmaması ise E vitamini+Se kombinasyonunun CAT aktivitesindeki düşüşü azalttığını düşündürdü.

Çalışmamızda gün içi ortalama değerler karşılaştırıldığında 0. günde CAT aktivitesi bakımından Grup III ile Grup I, II, IV arasındaki farkların önemli olduğu tespit edildi (P<0.05). 21. günde CAT aktivitesi Grup I'de diğer gruplara göre önemli derecede düşük bulundu (P<0.05). Bu durumun, çalışmada kullanılan hayvanların bir örnek olmayışları ile ilişkili olması muhtemeldir.

Süperoksit dismutaz, süperoksiti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalize eden bir enzimdir. Hücresel kompartımanlardaki O<sub>2</sub><sup>-</sup> düzeyleri bu sistem sayesinde kontrol altında tutulur (19). Kızıl ve Gül (16), besi sığırlarında vitaminlerin antioksidan etkileri ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilgili yapıları çalışmada tüm gruplarda 0 ve 21. günler arasında SOD aktivitelerinde meydana gelen azalmanın önemli olduğunu bildirmişlerdir. Subbaiah ve ark., (21), Newcastle virüs (NDV) ile enfekte tavuklarda SOD aktivitelerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu, NDV ile enfekte ve E vitamini takviyesi yapılan tavuklarda ise SOD aktivitelerinde yükselme tespit etmişlerdir. Marikovsky ve ark., (22), SOD aktivitesinin organizmada özellikle hücresel bağışıklığın meydana gelmesinde önemli rol oynadığını söylemiştir. SOD enziminin, makrofajların TNF-α, IL-1 ve IL-6 gibi proinflatör sitokinleri üreterek yangı süreçlerinin aktivasyonunda ve bağışıklığın düzenlenmesinde önemli görevleri

olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda, 0. gün ile 21. gün sonuçları karşılaştırıldığında, grup I 'de SOD aktivitesinde artış meydana geldiği ( $P<0.05$ ), diğer grupların SOD aktivitelerinde ise bir değişim olmadığı tespit edildi. Grup I 'de meydana gelen bu değişim, denemenin saha şartlarında yapılması ve gruplarının rastgele oluşturulması nedeniyle görülebilen bireysel farklılıklarla ilişkilendirildi.

Glutasyon peroksidaz enzimi yapısında Se elementi içerir. Dolayısıyla dokulardaki Se düzeyi enzimin işlevi için önemli bir unsurdur. Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin yıkımını katalize eder (19). Kızıl ve Gül (16), şap aşısı uygulaması yaptıkları besi sığırlarında, sadece trivalan şap aşısı uygulanan A grubu; şap aşısı + aşılama sırasında AD<sub>3</sub>E vitamini uygulanan C grubu ve şap aşısı + aşılama sonrası AD<sub>3</sub>E vitamini + C vitamini ve aşılama sonrası 3. günde C vitamini uygulanan D grubunda 0. ile 21. Gün ortalamaları arasında GSH-Px aktivitelerinde meydana gelen değişimin önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda tüm gruplarda GSH-Px aktivitelerinin zamana bağlı olarak azaldığı gözlemlendi ( $P<0.05$ ). Özellikle sadece aşı uygulanan grup II 'de 21. günde CAT ile birlikte GSH-Px aktivitelerinde meydana gelen azalma, hayvanlarda aşıya bağlı bir oksidatif cevabın gelişmiş olabileceğini düşündürdü.

*Corynebacterium pseudotuberculosis*'in makrofajların içerisinde, bakteriyel hücre zarı lipidlerinin özelliği ve bakteriyeye ait bazı antijenik elemanların, makrofajlardaki NO üretimini engellemesi yoluyla canlı kaldığı ifade edilmiştir (23). Ayrıca, NO'nun lenfositlerin aşırı çoğalmasının engellenmesi ve konakçı hücrelerine karşı hasarın bastırılmasında da rol oynadığı bildirilmiştir (24).

Organizmada makrofajlar tarafından üretilen NO, virüs, bakteri, mantar, protozoa, helmint ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterir. NO'nun *C. neoformans*, *T. gondii*, *M. bovis* gibi birçok patojene karşı mikrobiyostatik ve mikrobisidal etki gösterdiği bildirilmiştir (25). Diğer taraftan, makrofajlar tarafından salgılanan ve antibakteriyel özellikler sergileyen NO'nun sadece bakteriyel ve

tümör hücrelerinin tahribatına yol açmadığını, makrofajların kendilerinin ve çevredeki normal hücrelerin de hasarlanmasına ve fonksiyonlarının zayıflamasına yol açabileceği de bildirilmiştir (26).

Ralph ve ark., (27), tüberkülozlu hastalarda dışarıya verilen nefes içerisindeki NO seviyesini ölçmüş ve NO düzeyi düşük olan hastaların, yüksek olan hastalara göre daha şiddetli bir hastalık tablosu sergilediklerini tespit etmişlerdir. Grasemann ve ark., (28), pnömönili çocukların bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında yüksek düzeyde NO bulunduğunu tespit etmiştir. Nisbet ve ark. (29), *B. abortus* ile enfekte sığırlarda, NO düzeyinin daha yüksek olduğunu tespit etmişler, bu yükselmeyi bakteriyel liposakkaritler yüzünden makrofajlardaki NO üretiminin artışına bağlamışlardır.

Sonuç olarak; elde edilen bulgulara göre, çalışmamızda lipid peroksidasyonun önemli bir göstergesi olan MDA düzeylerinde önemli değişimler olmasa da; özellikle CAT ve GSH-Px aktivitelerindeki azalma ve SOD aktivitesindeki yükselme, aşılamanın kuzularda oksidan/antioksidan dengede bozulmaya neden olabileceğini düşündürdü. Ancak, çalışmada aşı ve antioksidanların birlikte uygulandığı saha şartlarında kuzular için enjeksiyon olarak tavsiye edilen dozlarda, antioksidan amaçla E vitamini ve Se takviyesinin SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ile MDA, NO düzeylerinde önemli bir değişime yol açmadığı belirlendi. Konu ile ilgili daha detaylı bulguların elde edilmesi için kontrollü olarak ve bir örnek yetiştirilen hayvanlar üzerinde ve E vitamini+Se uygulamalarının farklı doz ve sürelerde verileceği çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanaatine varıldı.

#### KAYNAKLAR

1. Batey RG., 1986. Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goat. Australian Veterinary Journal, 63, 269-272.
2. Fontaine MC., Baird GJ., 2008. Caseous lymphadenitis. Small Ruminant Research, 76, 42-48.

3. Batey RG., 1986. The effect of caseous lymphadenitis on body condition and weight of merino's mutton carcasses. *Australian Veterinary Journal*, 63, 268.
4. Paton MW., Mercy AR., Wilkinson FC., Gardner JJ., Sutherland SS., Ellis TM., 1988. The effects of caseous lymphadenitis on wool production and body weight in young sheep. *Australian Veterinary Journal*, 65, 117-119.
5. Paton MW., Walker SB., Rose IR., Watt GF., 2003. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. *Australian Veterinary Journal*, 81, 91-95.
6. Gutteridge JM., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41, 1819-1828.
7. Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
8. Fairbanks VF., Klee GG., 1987. Biochemical Aspect of Hematology. In "Fundamentals of Clinical Chemistry", Ed., NW Tiez, 3rd ed., 803-804, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
9. Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 135, 372-376.
10. Tracey WR., Tse J., Carter G., 1995. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272, 1011-1015.
11. Sun J., Chen B., Yao P., 2000. Assessment on acute toxicity of combined pesticides. *Wei Sheng Yan Jiu*, 29, 65-68.
12. Luck H., 1963. Catalase. In "Methods of Enzymatic Analysis", Ed., HU Bergmeyer, 2nd ed., 885-888, Verlag Chemical and Academic Press, New York.
13. Paglie DE., Valentie WN., 1967. Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70, 158-169.
14. Safarian MD., Karagezian KG., Karapetian ET., Avanesian NA., 1990. The efficacy of antioxidant therapy in patients with tuberculosis of the lungs and the correction of lipid peroxidation processes. *Problemy Tuberkuleza*, 5, 40-44.
15. Demir S., Yılmaz M., Köseoğlu M., Akalin N., Aslan D., Aydın A., 2003. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 154, 39-43.
16. Kızıl Ö., Gül Y., 2004. Şap aşısı uygulanan besi sığırlarında antioksidan vitaminlerin klinik ve bazı hematolojik parametreler ile antioksidan enzim ve lipid peroksidasyon düzeylerine etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 18, 97-106.
17. Kelly FJ., 1988. Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry*, 10, 21-23.
18. Michiels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J., 1991. Importance of Se-Glutathione Peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 17, 235-248.
19. Halliwell B., Gutteridge JMC., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. 246-351, Oxford University Press., New York.
20. Fang YZ., Yang S., Wu G., 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
21. Subbaiah KC., Raniprameela D., Visweswari G., Rajendra W., Lokanatha V., 2011. Perturbations in the antioxidant metabolism during Newcastle disease virus (NDV) infection in chicken: protective role of vitamin E. *Die Naturwissenschaften*, 98, 1019-1026.
22. Marikovskiy M., Ziv V., Nevo N., Harris-Cerruti C., Mahler O., 2003. Cu/Zn superoxide dismutase plays important role in immune response. *Journal of Immunology*, 170, 2993-3001.
23. Stefańska I., Gieryńska M., Rzewuska M., Binek M., 2010. Survival of *Corynebacterium*

- pseudotuberculosis within macrophages and induction of phagocytes death. Polish Journal of Veterinary Sciences, 13, 143-149.
24. MacMicking J., Xie QW., Nathan C., 1997. Nitric oxide and macrophage function. Annual Review of Immunology, 15, 323-350.
25. Granger DL., Hibbs JB Jr., Perfect JR., Durack DT., 1988. Specific amino acid (L-arginine) requirement for the microbistatic activity of murine macrophages. The Journal Clinical Investigation, 81, 1129-1136.
26. Genuardi JA., Eskew ML., Zeligs BJ., Bellanti JA., 1999. The effects of vitamin E and selenium on the Nitric Oxide production of macrophages. Pediatric Research, 45, 771-771.
27. Ralph AP., Yeo TW., Salome CM., Waramori G., Pontororing GJ., Kenangalem E., Sandjaja., Tjitra E., Lumb R., Maguire GP., Price RN., Chatfield MD., Kelly PM., Anstey NM., 2013. Impaired pulmonary nitric oxide bioavailability in pulmonary tuberculosis: association with disease severity and delayed mycobacterial clearance with treatment. The Journal of Infectious Diseases, 208, 616-626.
28. Grasemann H., Ioannidis I., de Groot H., Ratjen F., 1997. Metabolites of nitric oxide in the lower respiratory tract of children. European Journal of Pediatrics, 156, 575-578.
29. Nisbet C., Yarım GF., Çiftçi A., Çenesiz S., Çiftçi G., 2007. Investigation of serum nitric oxide and malondialdehyde levels in cattle infected with Brucella abortus. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 54, 159-163.