

LAKTASYONDAKİ TUJ KOYUNLARINDA SERUM ve SÜT SİALİK ASİT DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI¹

Mahmut KARAPEHLİVAN*

Şaban MARAŞLI*

Yayın Kodu: 2004/22-A

Özet: Bu çalışmada, Tuj ırkı koyunlarda kuru ve kolostrum dönemlerinde serum, laktasyon döneminde serum ve sütte sialik asit düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı.

Araştırmada hayvan materyalini, KAÜ Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde bulunan, aynı bakım ve besleme koşullarına sahip, 2-3 yaşında, sağlıklı, 20 baş Tuj ırkı koyun oluşturdu.

Serum Total Sialik Asit (TSA) düzeyinde, dönemlere göre istatistiksel anlamda önemli bir fark saptanamadı. Serum Lipid Bağlı Sialik Asit (LSA) düzeyleri ise kuru dönemde, kolostrum ve laktasyon dönemine; kolostrum döneminde de, laktasyon dönemine göre $p<0.001$ düzeyinde yüksek bulundu. Serum Protein Bağlı Sialik Asit (PSA) düzeyleri laktasyon döneminde; kolostrum ve kuru dönemine; kolostrum döneminde de, kuru dönemine göre $p<0.001$ düzeyinde yüksek bulundu. Süt TSA düzeyleri kolostrum döneminde laktasyon dönemine göre istatistik olarak yüksek bulundu ($p<0.001$).

Sonuç olarak, bu çalışma ile Kars ve yöresinde yetiştirilen Tuj ırkı koyunların kuru, kolostrum ve laktasyon dönemlerinde serum TSA, LSA, PSA ve süt TSA düzeyleri ilk kez tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Sialik asit, laktasyon, koyun.

An Investigation on the Serum and Milk Sialic Acid Levels of Tuj Sheep During Lactation Period*

Summary: The aim of this study was to determine a) the serum sialic acid levels of Tuj sheep during in dry and colostrum period and b) the serum and milk sialic acid levels during lactation period. Twenty healthy Tuj Ewes in the age group between 2 and 3 years, kept in similar breeding and feeding conditions were the subjects for this study. Ewes were obtained from Kafkas University, Veterinary Faculty Research and Practice Farm.

There was no statistically significance in total sialic acid (TSA) levels between study periods. Dry period serum lipid bound sialic acid (LSA) levels was the highest in all groups and colostrum period sialic acid level was higher than lactation period ($p<0.001$). Lactation period serum protein bound sialic acid (PSA) levels was higher than both lactation and dry period ($p<0.001$). Colostrum period PSA levels were also statistically higher than dry period ($p<0.001$). Colostrum period milk TSA levels were statistically higher than that of the lactation period milk TSA ($p<0.001$).

As a result, present study first time reports the changes in serum TSA, LSA, PSA and milk TSA levels of Tuj sheep that commonly bred in Kars region.

Keywords: Sialic acid, lactation, sheep.

GİRİŞ

Sialik asit (SA) terimi, ilk kez 1952 yılında, gangliozidler ve tükrük müsininde bulunan asidik karakterde özel bir amino şekeri tanımlamak için kullanılmıştır¹. Sialik asitlerin, omurgasızların bazılarında, omurgalıların bütün türlerinde ve bazı bakterilerde mevcut olduğu bilinmektedir². Sialik asitler, insan ve hayvan vücudunda membran glikoproteinleri, gangliozidler ve polisakkaritlere bağlı olarak % 65-70 oranında bulunurlar, çok az miktarları serbest haldedir³. Sialik asitler monosakkarit yapıda oldukları için bir çok fizyolojik ve patolojik olayları etkilemektedirler^{4,6}.

Serum SA düzeylerinde meydana gelen değişiklikler ilgi ile izlenmekte ve bazı hastalıkların tanı, ayırıcı tanı ve prognozunda klinik olarak önemi artmaktadır. Romatoid artrit⁷, kronik karaciğer hastalıkları⁸, masti-

tis⁹, diyabet¹⁰, kardiovasküler hastalıklar^{11,12}, psöriazis¹³, glomeruler nefritler^{8,14}, pnömoni, infeksiyöz hastalıklar^{8,15}, kronik hematüri¹⁴, kanser, melanoma, lenfatik lösemi, kronik tüberküloz^{8,13,16-19}, meningitis, amiloidozis ve distemper^{18,20} gibi bir çok hastalıkta serum SA düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir.

İnsan ve köpeklerde yangısal hastalıklar ve yaygın olan çeşitli tümör tiplerinin tanısında ve ayırıldığında serum SA analizlerinin önemli bir indikatör olabileceği bildirilmiştir^{2,10,16,19-23}. Yangısal reaksiyonların veya yaralanmanın başlangıcından itibaren SA düzeyinin hızla arttığı, akut faz proteinlerin (AFP) oligosakkarit zincirinin son halkasında bulunan SA'in akut faz yanıtın bir göstergesi olabileceği belirtilmiştir^{10,12,16,24}.

Bu çalışma ile laktasyonun farklı aşamalarındaki sağlıklı Tuj koyunlarında, serumdaki Total Sialik Asit

¹ Çalışma KAÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenen aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir (Pr. No: 2001VF032).

* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

(TSA), Lipid Bağlı Sialik Asit (LSA), Protein Bağlı Sialik Asit (PSA) ile sütteki TSA düzeylerinin belirlenmesi ve ileride yapılacak olan çalışmalara ışık tutacak fizyolojik bir kriter olabilirliğinin saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmanın hayvan materyalini, KAÜ Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde bulunan, aynı bakım ve besleme koşullarına sahip, 2-3 yaşında, sağlıklı, 20 baş Tuj ırkı koyun oluşturdu. Hayvanlardan, doğumun gerçekleştiği gün bir kez, laktasyon süresince her 15 günde bir (toplam sekiz kez) ve kuru döneminde bir olmak üzere toplam 10 kez V. jugularisten usulüne uygun olarak kan alındı. Kan örnekleri oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra 10 dakika 3000 devirde santrifüj edildi. Elde edilen serumlar analize kadar -25°C de saklandı. Koyunlardan doğumdan hemen sonra (kolostrum) bir kez ve laktasyon süresince 15'er gün aralıklarla her seferinde 10'ar ml süt usulüne uygun olarak kapaklı tüplere alındı. Alınan süt örnekleri 3000 devirde 20 dakika santrifüj edildi ve santrifüj işleminden sonra süütün yağsız kısmından örnekler alınarak analize kadar -25°C'de saklandı^{25,26}.

Total sialik asit analizleri Sydow²⁷'un, LSA tayini ise Katapodis ve Stock²⁸'un metoduna göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen absorbanslar, 10-40 mg/dl N-asetil nöraminik asit ile hazırlanan standart eğriden değerlendirildi. Serum PSA değerleri ise TSA miktarlarından LSA miktarları çıkarılarak hesaplandı²⁹.

İstatistik analizler: Elde edilen verilerde iki grup karşılaştırılmasında t testi'nden üç ve daha fazla sayıda grup analizinde varyans analizinden yararlanıldı³⁰ Farklılık gözlenen ortalamalara Duncan testi uygulandı³¹.

BULGULAR

Çalışmada elde edilen serum TSA, LSA, PSA ve süt TSA değerleri ve istatistiksel önemleri Tablo 1'de gösterildi.

Kuru, kolostrum ve laktasyon dönemleri ortalama serum TSA düzeyleri arasında istatistik olarak anlamlı fark bulunmadı. Kuru dönemi ortalama serum LSA düzeylerinde kolostrum ve laktasyon dönemine göre; kolostrum dönemi, laktasyon dönemine göre $p<0.001$ düzeyinde anlamlı farklar bulundu. Laktasyon dönemi ortalama serum PSA düzeyleri kolostrum ve kuru dönemine göre; kolostrum dönemi ise kuru dönemine göre $p<0.001$ düzeyinde yüksek bulundu. Kolostrum döneminde ortalama süt TSA düzeylerinin laktasyon

dönemine göre $p<0.001$ düzeyinde yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 1).

Kuru döneminde serum TSA ile serum LSA düzeyleri arasında ($p>0.05$), serum TSA ile serum PSA düzeyleri arasında yüksek derecede anlamlı pozitif ($r=0.71$, $p<0.01$), serum PSA ile serum LSA düzeyleri arasında anlamlı negatif ($r=-0.48$, $p<0.05$) ilişkiler bulundu.

Serum TSA ile serum PSA düzeyleri arasında yüksek derecede pozitif ($r=0.88$, $p<0.01$) ve serum PSA ile serum LSA düzeyleri arasında ise negatif ($r=-0.47$, $p<0.05$) anlamlı ilişkiler tespit edildi. Laktasyon dönemi serum LSA ile serum PSA arasında yüksek derecede anlamlı negatif ($r=-0.52$, $p<0.01$) ve serum TSA ve serum LSA düzeyleri arasında anlamlı negatif ($r=-0.19$, $p<0.05$) ilişkiler bulundu.

Tablo 1. Dönemlere bağlı olarak serum TSA, LSA, PSA ve süt TSA değerleri ($X\pm Sx$).

Table 1. The periodic level of serum TSA, LSA, PSA and milk TSA ($X\pm Sx$).

Parametreler	Dönemler		
	Kuru	Kolostrum	Laktasyon
Serum TSA (mg/dl)	63.32±1.90	57.68±1.27	62.55±0.89
Serum LSA (mg/dl)	28.05±1.52 ^a	12.84±0.68 ^b	9.74±0.36 ^c
Serum PSA (mg/dl)	35.28±2.09 ^a	44.84±1.45 ^b	52.81±1.02 ^c
Süt TSA (mg/dl)	-	112.97±4.79 ^a	42.07±0.78 ^b

a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılık önemlidir ($P<0.001$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, serum TSA düzeylerinin kolostrum döneminde istatistik olarak anlamlı olmayan derecede düşük olduğu tespit edildi. Elde edilen serum TSA bulguları Missouri'nin³² çalışma bulguları ile uyum göstermektedir. Missouri, laktasyonun değişik dönemlerinde ruminantlardan aldığı serum örneklerinde TSA değerlerini inekte 206 ± 33 $\mu\text{mol/dl}$, keçide 207 ± 14 $\mu\text{mol/dl}$ olarak, gebe koyunların serumlarında ise TSA değerini 177 ± 00 $\mu\text{mol/dl}$ olarak tespit etmiş, yirmi haftalık periyotta serum TSA değerlerinin değişmediğini ve normal değerlerde seyrettiğini bildirmiştir³².

Yapılan çalışmada kolostrum sütünde yüksek miktarda tespit edilen TSA değeri laktasyonda normal seviyede olup, laktasyonun son dönemlerinde tekrar bir artış gösterdi. Elde edilen süt TSA değerleri literatür verileri ile uyum içindedir^{25,33,35,39}. Kolostrum döneminde süt TSA düzeylerinin yüksek olması immunoglobulinlerin (Ig) miktarının yüksek olmasıyla^{25,32} ve laktas-

yonun sonuna doğru tekrar artış göstermesinin ise hayvanların kuruya çıkmaları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Puente ve ark.³³ inek kolostrumunda kazeine bağlı SA ve total karbonhidrat içeriğinin laktasyondaki süte oranla daha fazla olduğunu ifade etmektedirler. Süt SA'leri ve gangliozidleri arasında bir paralelliğin söz konusu olduğunu ve SA içeriğinin laktasyonun ilk bir kaç günü en yüksek değerde bulunduğunu, 30. güne kadar dereceli bir şekilde azaldığını bunu laktasyonun sonunda küçük bir artışın izlediğini rapor etmişlerdir.

Kiemeier ve Freisfeld²⁵ ineklerde laktasyonun süt SA düzeyine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, kolostrumda SA miktarının en yüksek düzeyde olduğunu ve 3. günden 5. güne kadar azaldığını, 10. günden laktasyonun son 3-4 haftasına kadar aynı düzeyde kaldığını ve son dönemde ise tekrar yükselme gösterdiğini bildirmektedirler. Aynı şekilde insanlarda yapılan bir başka çalışmada da doğumdan sonraki ilk iki günde süt TSA düzeylerinin en yüksek olduğu ve laktasyonun ilerleyen günlerinde süt TSA düzeyinin belirgin bir şekilde azaldığı bildirilmektedir. İnsan kolostrumunda laktasyonun ilerleyen günlerine göre daha yüksek SA düzeylerinin bulunmasını, kolostrumda daha fazla Ig içermesine, SA'lerin Ig'lerin bir komponenti ve Ig'in yeni doğanlarda gastrointestinal sistemde özellikle bakterilere ve patojen etkenlere karşı koruyuculuk fonksiyonuna sahip olmasına bağlamışlardır.^{26,34-38} Heine ve ark.³⁹, kadın sütünde yaptıkları çalışmada TSA düzeyinin kolostrumda laktasyonun 10. gününe göre yüksek olduğunu bildirmişler ve laktasyonun ilk günlerinde sütte SA düzeylerinin yüksek olmasının beynin gelişmesinde önemli rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Çalışmada, en yüksek serum LSA düzeyleri kuru dönemde, serum PSA düzeyleri ise laktasyon döneminde ölçüldü. Koyunlarda ve diğer türlerde laktasyon periyodu boyunca serum LSA ve PSA düzeylerinin araştırıldığı literatür kayıtlarına rastlanılamamıştır. Bu nedenle, saptanan değerlerin ilk olmasından dolayı tartışma imkanı bulunmamaktadır. Ancak elimizde bulunan az sayıdaki literatür bilgilerine dayanılarak, kolostrum ve laktasyon döneminde serum LSA düzeylerinin düşük olmasının nedeni SA sentezinin ön maddesi olan glukozun meme dokusu tarafından enerji kaynağı olarak ve laktoz yapımında kullanılmasından kaynaklanabileceği görüşünü paylaşmaktayız.^{3,5,15,40}

Sonuç olarak, bu çalışma ile Kars ve yöresinde yetiştirilen Tuj ırkı koyunların normal ve laktasyon döneminde serum TSA, LSA, PSA ve süt TSA düzeyleri ilk kez tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen verile-

rin bu konuda özellikle koyunlarda daha sonra yapılacak çalışmalara ışık tutabileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- 1 **Blix G, Gottschlak A, Klenk E:** Proposed nomenclator in the field of neuraminic and sialic acids. *Nature*, 175: 340-345, 1957.
- 2 **Varen L:** The distribution of sialic acids in nature. *Comp Biochem Physiol*, 10, 153-157, 1963.
- 3 **Şimşek B, Hacısalihoğlu A:** Sialik asit ve fizyolojik fonksiyonları. *Biyokimya Derg*, XI(3): 77-88, 1986.
- 4 **Schauer R, Kamerling JP:** Chemistry, biochemistry and biology of sialic acids. In: Montreuil J, Vliгентhart JFG, Schachter H (Eds). *Glycoprotein II, Elsevier Sci*, pp 244-402, 1997.
- 5 **Schauer R:** Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acid. *Advan Carbonh Chem Biochem*, 40: 131-234, 1982.
- 6 **Traving C, Schauer R:** Structure, function and metabolism of sialic acids. *Cell Mol Life Sci*, 54: 1330-1349, 1998.
- 7 **Stefenelli N, Klotz H, Engel A, Bauer P:** Serum sialic acid in malignant tumours. Bacterial infections and chronic liver diseases. *J Cancer Res Clin Oncol*, 109: 55-59, 1985.
- 8 **Crook M:** The determination of plasma or serum sialic acid. *Clin Biochem*, 26: 31-38, 1993.
- 9 **Tsolov V, Tsonev P, Galabinov G, Kamburov G:** Untersuchungen über die Veränderungen und den diagnostischen Wert der Sialinsäure in Kuhmilch bei subklinischen Mastitis-Formen. *Zbl Vet Med B*, 20: 577-583, 1973.
- 10 **Bilgi C, Erbil MK, Yılmaz K, Kenar L:** Elisa kuyucuklarında serum sialik asit konsantrasyonlarının enzimatik analizi. *Biyokimya Derg*, XX(2): 17-22, 1995.
- 11 **Martin A, Crook MB, Earle K, Morocutti A, Yip J, Viberti G, Pickup JC:** Serum sialic acid, a risk factor for cardiovascular disease, is increased in IDDM patients with microalbuminuria and clinical proteinuria. *Diabetes Care*, 17(4): 305-310, 1994.
- 12 **Linberg G, Eklund GA, Gullberg B, Rastam L:** Serum sialic acid cardiovascular mortality. *BJM*, 302: 143-146, 1991.
- 13 **Güner İ, Ersöz B, Bayındır O, Öztürk G, Tunçok S:** Bazı deri hastalıklarında serum total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri. *Ege Üniv Tıp Fak Derg*, 31(2): 23-205, 1992.
- 14 **Narin N, Akçoral A, Narin F:** Akut poststreptokokisit glomerulonefritli olgularda serum sialik asit ve bakır değerleri. *Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg*, 7(3): 1-4, 1993.
- 15 **Gottschalk A:** Glycoproteins, their composition, structure and function revised and expended. 2th Ed. Part A, Elsevier Publication Co, Amsterdam, London, New York., pp 403-8, 1972.
- 16 **Şimşek B, Hacısalihoğlu A:** Sialik asit ile tümör ilişkisi. *Biyokimya Derg*, XII(1): 73-83, 1987.
- 17 **Katopodis N, Hirschaut Y, Geller NL, Stock C:** Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res*, 42: 5270-5275, 1982.
- 18 **Carter A, Martin NH:** Serum Sialic Levels in Health and Disease. *J Clin. Pathol*, 15: 69-72, 1962.
- 19 **Crook M, Constable S, Lumb P, Rymer J:** Elevated serum sialic acid in pregnancy. *J Clin Pathol*, 50(4): 494-495, 1997.
- 20 **Altıntaş A, Kurtdede A, Fidancı UR, Börkür M:** Köpek gençlik hastalığında (distemper) serum sialik asit ve protein

- düzeylemelerinin klinik önemi. *AÜ Vet Fak Derg*, 36(1): 154-164, 1980.
- 21 **Crook M, Haq M, Tutt P**: Evaluation of three assays for the determination of serum total sialic acid. *Clin Biochem*, 26: 449-454, 1993.
- 22 **Dunzendorfer U, Katopodis N, Dnistrian M, Stock C, Morton K, Schwartz K, Whitmore WF**: Plasma lipid bound sialic acid in patients with prostate and bladder cancer. *Invest Uro*, 19(3): 195-196, 1981.
- 23 **Hara S, Takemori Y, Yamaguchi M, Nakamura M, Ohkura Y**: Fluorometric High-performance liquid chromatography of N-acetyl- and N-glycolylneuraminic acids and its application to their microdetermination in human and animal sera, glycoproteins, and glycolipids. *Anal Biochem*, 164: 138-145, 1987.
- 24 **Wakabayashi I, Sakamoto K, Yoshimoto S, Masui**: Relation of serum sialic acid to lipid concentrations. *MJM*, 305: 562-563, 1992.
- 25 **Kiermer F, Freisfeld I**: Zur Kenntnis des Neuraminsäuregehaltes in Kuhmilch. Veränderungen des Neuraminsäuregehaltes der Milch durch biologische Einflüsse. *Org Ges Leb Wis*, 128: 267-277, 1966.
- 26 **Sabharwal H, Sjöblad S, Lundblad A**: Sialylated oligosaccharides in human milk and feces of preterm, full-term, and weaning infants. *J Pediatr Gastr And Nutr*, 2: 480-484, 1991.
- 27 **Sydow G**: A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed Biochim Acta*, 44(11/12): 1721-1723, 1985.
- 28 **Katopodis N, Stock C**: Improved method to determine lipid bound sialic acid in plasma or serum. *Res Com Chem Pat Phar*, 30(1): 171-180, 1980.
- 29 **Doğan P, Muhtaroğlu S**: Pre-eklampsi ve eklampsi'de serum total ve lipide bağlı sialik asit seviyeleri. *Erciyes Üniv Tıp Fak Derg*, 12: 10-16, 1990.
- 30 **SPSS for Windows**: 6.0.1. SPSS inc, 1993.
- 31 **Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F**: İstatistik Metodları-I. AÜ Ziraat Fak Yay, AÜ Basım Evi, Ankara, pp 861, 1983.
- 32 **Missouri L**: Sialic acid content of ruminant blood serum. *J Dairy Sci*, 51(8): 1303-1305, 1968.
- 33 **Puente R, Pardo LAG, Hueso P**: Gangliosides in bovine milk. *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 373: 283-288, 1992.
- 34 **Carlson SE**: N-acetylneuraminic acid concentration in human milk oligosaccharides and glycoproteins during lactation. *Am J Clin Nutr*, 41: 720-726, 1985.
- 35 **Diaz AS, Ruano MJ, Lorente F, Hueso P**: A critical analysis of total sialic acid and sialoglycoconjugate contents of bovine milk-based infant formulas. *J Pediatr Gastroenter*, 24(4): 405-410, 1997.
- 36 **Nakano T, Sugawara M, Kawakami H**: Sialic acid in human milk: composition and functions. *Acta Pediatr Tw*, 42: 11-117, 2000.
- 37 **Puente R, Hueso P**: Lactational changes in the N-glycolylneuraminic acid content of bovine milk gangliosides. *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 374: 475-478, 1993.
- 38 **Wang B, Brand-Miller J, Mcveagh P, Petocz P**: Concentration and distribution of sialic acid in human milk and infant formulas. *Am J Clin Nutr*, 74: 510-515, 2001.
- 39 **Heine W, Wutzke KD, Radlke M**: Sialinsäure in muttermilch und säuglingsformelnahrungen. *Monatsschr Kinderheilkd*, 141: 946-950, 1993.
- 40 **Alpan, O**: Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği. 1. Baskı, Medisan, Ankara, pp 161-162, 1990.

Yazışma adresi (Correspondence address)

Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı, 36100 KARS, TÜRKİYE
Tel: +90 474 2426801
Fax: +90 474 2426853
e-mail: mkarapehlivan@hotmail.com