

Sancı Semptomlu Atlarda Plazma Oksidatif Stres Parametreleri

Ömer KIZIL*

Meltem KIZIL**

Abdurrauf YÜCE**

* Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı/Elazığ - TÜRKİYE
** Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı/Elazığ - TÜRKİYE

Yayın Kodu: 2006/04-A

Özet

Bu çalışma, sancı semptomlu atlarda plazma oksidatif stres parametrelerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla akut sancı semptomlu 15 ve kontrol amacıyla da 10 adet klinik olarak sağlıklı at kullanılmıştır. Plazmada glutatyon peroksidaz (GPx), indirgenmiş glutatyon (GSH), katalaz (CAT) ve lipid peroksidasyon (MDA) düzeyleri spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Gruplar arasında (sancılı ve sağlıklı atlar) MDA, Glutatyon peroksidaz ve indirgenmiş glutatyon bakımından önemli istatistiksel farklılık saptanmıştır. Katalaz bakımından ise, sağlıklı atlarda daha yüksek düzeyler saptanmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanamamıştır. Bu çalışma, sancı semptomlu atlarla kontroller arasında plazma oksidatif stres parametreleri açısından önemli farklılıkların olduğuna dikkat çekmektedir.

Anahtar sözcükler: At, Sancı, Oksidatif stres, Lipid peroksidasyon.

Plasma Oxidative Stress Parameters in Horses with Colic Symptoms

Summary

This study was aimed at determining the plasma oxidative stress parameters in horse with colic symptom. The study involved fifteen horses with acute colic and ten healthy horses as control. Plasma glutathione peroxidase, reduced glutathione, catalase and lipid peroxidation levels were spectrophotometrically determined. Malondiadehyde (MDA), glutathione peroxidase (GsHPx) and reduced glutathione (GSH) concentrations significantly different between the groups. Although catalase (CAT) levels was higher in healthy horses, this difference was not statistically significant. This study has highlighted important differences in plasma oxidative stress parameters between horse with colic and healthy controls.

Keywords: Horse, Colic, Oxidative stres, Lipid peroxidation.

İletişim (Correspondence)

Phone: +90 424 2370000/3883
e-mail: omerkizil@yahoo.com

GİRİŞ

Sancı, genel olarak mide barsak kanalı veya diğer organlarda meydana gelen ağrı duyusunu tarif etmede kullanılan bir terimdir¹. Bir çok nedeni ve formu olmakla birlikte sindirim kanalında meydana gelen olaylar en sık karşılaşılan ve gerçek sancılar olarak nitelenen sancı olaylarıdır² Sancı olayları atlarda başlıca ölüm nedenleri arasında yer almaktadır^{1,3}.

Hücre sistemleri normal fizyolojik şartlarda devamlı olarak hem endojen hem de eksojen birçok stres faktörüyle karşı karşıya kalmaktadır⁴. Çeşitli hastalıklar (enfeksiyonlar), çevresel faktörler (kirlilik, radyasyon, fiziksel etmenler) ve yemle ilgili nedenler (yüksek oranda çok zincirli doymamış yağ oranı) oksidatif stres oluşturan nedenler arasındadır⁵. Reaktif Oksijen Metabolitleri (ROM) etkili ve güvenli bir şekilde ortamdaki uzaklaştırılmaz ise, oksidatif stres hayvan sağlığını direk ve indirek olarak etkiler. Direk etkiler önemli lipid ve makromoleküllerde peroksidatif hasarı kapsarken, indirek etkiler hücre membranı ve komponentlerinde reaktif türler tarafından yapılan değişiklikleri kapsar⁶. Hücre membranlarındaki doymamış yağ asitlerinin ROM ile reaksiyona girerek peroksit, alkol, aldehitler gibi çeşitli ürünlere yıkımlanması lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendini katalizleyerek devam eder ve son aşamada toksik bir ürün olan malondialdehid (MDA) oluşur. Malondialdehid ise hücre yüzeyindeki iyon transport enzimlerinin inaktivasyonuna neden olur⁷.

Antioksidan enzimler, aşırı miktarlarda serbest radikal oluştuğunda hücreleri ve organizmayı zararlı etkilerden koruyan sistemlerdir. Katalaz, glutatyon peroksidaz ve indirgenmiş glutatyon serbest radikallere karşı organizmayı koruyan, kompleks savunma yeteneğine sahip bileşiklerdir⁸. Memeli hücrelerinde katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimi başlıca hidrojen peroksidin metabolize olarak hidroksil (HO⁻) radikali oluşturmasını engelleyerek^{9,10}, indirgenmiş glutatyon ise peroksitleri membran hasarına neden olmadan önce yıkılmayarak etki gösterir⁸.

Çeşitli hastalıkların teşhisi, tedavisi ve prognozunun belirlenmesi bakımından şüpheli durumlarda bir klinikçinin başvuracağı temel kaynak biyokimyasal verilerdir. Buradan yola çıkarak, bu çalışmada glutatyon peroksidaz, katalaz, indirgenmiş glutatyon ve malondialdehid gibi oksidatif stres parametre-

lerinin sancı semptomlu ve klinik olarak sağlıklı atlarda nasıl değişim gösterdiğini belirlemek amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmanın materyalini Ankara bölgesindeki binicilik klüpleri bünyesindeki, aynı bakım ve besleme şartlarında tutulan, 15 adet sancı semptomlu ve 10 adet klinik olarak sağlıklı İngiliz atı oluşturmuştur. Sancı semptomlu ve kontrol amacıyla kullanılan sağlıklı atların yaşları 3-5 arasında değişmekte olup, hemen hemen aynı antrenman programı uygulanan atlardı. Tüm hayvanlara yem maddesi olarak arpa, yulaf, pelet yem, kuru ot ve ad libitum olarak su verilmiştir.

Biyokimyasal analizler amacıyla sancılı ve sağlıklı atların V. jugularis'lerinden antikoagulantlı kan örnekleri alınmış, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları çıkarılmış ve kullanılmaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Plazmadaki glutatyon peroksidaz düzeyleri Lawrence¹¹ metodu, indirgenmiş glutatyon düzeyleri Sedlak¹² metodu, katalaz düzeyleri Goth metodu¹³ ve lipid peroksidasyon durumu Placer ve ark¹⁴'nın kullandıkları metoda göre tayin edilmiştir.

SPSS Ms Windows Release 10.0 programı yardımıyla, elde edilen bulguların bağımsız t-testi kullanılarak istatistiksel analizleri yapılmıştır.

BULGULAR

Sancı semptomlu ve sağlıklı atlarda saptanan glutatyon peroksidaz, katalaz, indirgenmiş glutatyon ve malondialdehid düzeyleri ile gruplar arasındaki istatistiksel önemlilik dereceleri Tablo I'de gösterilmiştir.

Çalışma sonuçlarına bakıldığında; sancı semptomlu atlarla (1.76 nmol/ml) klinik olarak sağlıklı atlar (1.29 nmol/ml) arasında malondialdehid konsantrasyonları bakımından p<0.05 düzeyinde istatistiksel önem olduğu, glutatyon peroksidaz aktivitesi bakımından sancı semptomlu atlarla (2.42 IU/protein) klinik olarak sağlıklı atlar (3.32 IU/protein) arasında p<0.05 düzeyinde istatistiksel önem olduğu; indirgenmiş glutatyon aktiviteleri bakımından sancı semptomlu atlarla (0.371 µmol/ml) klinik olarak sağlıklı atlar

(0.628 $\mu\text{mol/ml}$) arasında $p<0.001$ düzeyinde istatistiksel önem olduğu görülmektedir. Her ne kadar klinik olarak sağlıklı atlardaki katalaz düzeyleri (27.6 KU/L) sancı semptomlu atlara nazaran (26.2 KU/L) biraz daha yüksek belirlenmişse de istatistiksel olarak bir önemlilik saptanamamıştır.

Tablo 1. Sancı semptomlu ve sağlıklı atlardaki plazma oksidatif stres parametreleri.

Table 1. Plasma oxidative stress parameters in horses with colic symptoms and healthy.

Parametreler	Sancılı (Mean \pm SD)	Sağlıklı (Mean \pm SD)	P
GPx (IU/gprotein)	2.42 \pm 0.54	3.32 \pm 0.47	*
GSH ($\mu\text{mol/ml}$)	0.371 \pm 0.09	0.628 \pm 0.18	**
CAT (KU/L)	26.2 \pm 8.2	27.6 \pm 11.4	-
MDA (nmol/ml)	1.76 \pm 0.38	1.29 \pm 0.51	*

*: $p<0.05$, **: $p<0.001$

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma, hem sağlıklı hayvanlarda hem de organizmayı stres altında bırakan sancı durumunda plazma oksidatif stres parametrelerinin nasıl etkilediğini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Yaptığımız araştırmalarda, özellikle Ülkemizde yetiştirilen atlarda çeşitli hastalıklar veya fizyolojik durumlarda oksidatif stresin nasıl değişim gösterdiğini bildiren bir yayına rastlayamadık. Genel olarak yurt dışı kaynaklı rastladığımız yayınlarda çeşitli amaçlarla kullanılan yarış atlarında strese maruz kalma ve egzersize bağlı olarak fizyolojik, biyokimyasal ve lipid peroksidasyon durumunun belirlenmesine yönelik çalışmalara rastlanılmıştır¹⁵⁻¹⁹.

Plazma ve/veya serumdaki enzimsel aktivitelerin ırk, yaş, egzersiz durumu ve özellikle de ölçüm metodlarına bağlı olarak farklılıklar gösterdiği ifade edilse de²⁰⁻²² atlarda egzersiz ile ilgili olarak yapılan çalışmaların hemen hemen hepsinde, her ne kadar şekillenilen değişikliklerin şiddeti ve doku hasarının düzeyi benzer olmasa da, oksidatif strese ait bulgular ortaya konulmuştur. Egzersizin neden olduğu stresin membran lipidleri, proteinler, karbonhidratlar ve ribonükleik asitler gibi hücre bileşenlerinin oksidasyonu sonucu doku hasarına neden olduğu ifade edilmiştir²³. Herhangi bir nedenle organizma stres altında kaldığında genel olarak plazmada malondialdehid konsantrasyonu artar ve bu durum lipid peroksidasyonun bir

göstergesi olarak kabul edilir^{24,25}.

Egzersizle ilgili olarak yapılan ve plazma ile eritrositlerdeki antioksidant değişimlerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda, plazma lipid peroksidasyon düzeylerinin yükseldiği, eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesinin azaldığı fakat katalaz aktivitesinin değişmediği belirtilmiştir²⁶⁻²⁸. Her ne kadar nedenler farklı olsa da, bu çalışmadaki sancı semptomlu atlarda saptanan değerler yukarıda bahsedilen çalışmaların bulgularıyla benzerlik göstermekte olup, sancı esnasında gelişen oksidatif strese işaret etmektedir. Tüm bu bulgular ışığında, nedenleri değişik olsa da sancı olaylarının organizma için yoğun sayılabilecek bir stres kaynağı olduğunu ve organizmada serbest radikal düzeylerinin artışına sebep olduğunu söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, her ne kadar kullanılan ölçüm metoduna ve laboratuvar şartlarına göre tespit edilen sonuçlar değişim gösterse de, bir klinikçinin çeşitli biyokimyasal parametreler hakkında yorum yapabilmesi için hem hastalık durumlarındaki değişimleri hem de normal sağlıklı hayvanlardaki düzeyleri bilmesi gerektiği göz önünde tutulursa, bu çalışmanın hem klinik olarak sağlıklı atlarda hem de sancı semptomlu atlarda plazma oksidatif stres parametrelerindeki değişimleri göstermesi bakımından faydalı bir çalışma olduğunu, ayrıca tespit edilen bu değerlerin atlar üzerinde yapılan benzer çalışmalarda da bir kriter olarak kullanılabilceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1 Thoenes MB, Ersboll AK, Jensen AL, Hesselhot M: Factor analysis of the interrelationships between clinical variables in horses with colic. *Vet Med*, 48, 201-214, 2001.
- 2 Gonçaves S, Julliard V, Leblanc A: Risk factors associated with colic in horses. *Vet Res*, 33, 641-652, 2002.
- 3 Keen K, Coates-Markle L: Preventing and treating colic in your horse. Oregon State University Extension Service, 1474, 2005.
- 4 Gopalakrishna R, Jaken S: Protein kinase C signaling and oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 28, 1349, 2000.
- 5 Lachance PA, Nakat Zeina BS, Woo-sik Jeong MS: Antioxidants: A integrative approach. *Nutr*, 17, 835-838, 2001.
- 6 Miller JK, Slebodzinska EB: Oxidative stress, antioxidants and animal functions. *J Dairy Sci*, 76, 2812-2823, 1993.
- 7 Köse K, Doğan P: Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Tip Derg*, Ek-1, 349-350, 1992.
- 8 Michiels C, Raes M, Toussiant O, Remacle J: Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 17, 235-

- 248, 1994.
- 9 **Yalçın S:** Serbest radikaller ve patolojik etkileri. *Sendrom*, Ekim, 40-42, 1992.
 - 10 **Nordberg J, Arner ESJ:** Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*, 31(11):1287-1312, 2001.
 - 11 **Lawrence RA, Burk RF:** Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Bioph Res Commun*, 71 (4): 952-958, 1976.
 - 12 **Sedlak J, Lindsay RHC:** Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205, 1968.
 - 13 **Goth L:** A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*, 196, 143-152, 1991.
 - 14 **Placer AZ, Linda LC, Johnson B:** Estimation of product of lipid peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16, 359-364, 1966.
 - 15 **Haris DB, Haris RC, Wilson AM, Goodship A:** ATP loss with exercise in muscle fibres of the gluteus medius of the throughbred horse. *Res Vet Sci*, 63, 231-237, 1997.
 - 16 **Art T, Vottron D, Lekeux P:** Physiological measurements in horses after strenuous exercise in hot, humid conditions. *Equine Vet J Suppl*, 20, 120-124, 1995.
 - 17 **Rose RJ, Purdue RA, Hensley W:** Plasma biochemistry alterations in horses during an endurance ride. *Equine Vet J*, 9, 122-126, 1977.
 - 18 **Snow DH, Haris RC, Gash SP:** Metabolic response of equine muscle to intermittent maximal exercise. *J Am Vet Physiol*, 58, 1689-1697, 1985.
 - 19 **Williamson LH, Andrews F.M, Maykuth PL, White SL, Green EM:** Biochemical changes in three day- event horses at the beginning, middle and end of phase C and after phase D. *Equine Vet J Suppl*, 22, 92-98, 1996.
 - 20 **Sen CK:** Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol*, 79, 675-686, 1995.
 - 21 **Kanter MM:** Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. *Int J Sport Nutr*, 4, 205-220, 1994.
 - 22 **Jones D:** Diagnostic enzymology in veterinary medicine. *In Practice*, 10, 241-244, 1988.
 - 23 **Clarkson PM, Thompson HS:** Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr*, 72 (suppl 2): 637-646, 2000.
 - 24 **Freeman BA, Crapo JD:** Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47, 412-425, 1982.
 - 25 **Halliwell B, Chrica S:** Lipid peroxidation: Its mechanism measurements and significance. *Am J Clin Nutr*, 57 (suppl): 715-725, 1999.
 - 26 **Ono K, Inui K, Hasegawa T, Matsuki N, Watanabe H, Takagi S, Hasegawa A, Tomoda I:** The changes of antioxidative enzyme activities in equine erythrocytes following exercise. *Nippon Juigaku Zasshi*, 52, 759-765, 1990.
 - 27 **Mills PC, Smith NC, Casas I, Harris P, Harris RC, Marlin DJ:** Effect of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur J Appl Physiol*, 74, 60-66, 1996.
 - 28 **Avellini L, Silvestrelli M, Gaiti A:** Training-induced modifications in some biochemical defences against free radical in equine erythrocytes. *Vet Res Commun*, 19, 179-184, 1995.