

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NORMAL ve GÜÇ DOĞUM YAPAN İNEKLERDE BAZI AKUT
FAZ PROTEİNLERİNİN ve OKSİDATİF STRES DÜZEYİNİN
BELİRLENMESİ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Emrah BAYYİT

**Danışman
Doç. Dr. Oğuz MERHAN**

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KARS-2019

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NORMAL ve GÜÇ DOĞUM YAPAN İNEKLERDE BAZI AKUT
FAZ PROTEİNLERİNİN ve OKSİDATİF STRES DÜZEYİNİN
BELİRLENMESİ**

Emrah BAYYİT
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Oğuz MERHAN

KARS-2019

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Emrah BAYYİT tarafından hazırlanmış olan “*Normal ve Güç Doğum Yapan İneklerde Bazı Akut Faz Proteinlerinin ve Oksidatif Stres Düzeyinin Belirlenmesi*” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy *birliği*..... ile *Kabul*..... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19.06.2019

Adı Soyadı:

İmza

Başkan: Doç. Dr. Oğuz MERHAN.....
Üye: Doç. Dr. Hacı Ahmet DEVECİ.....
Üye: Dr. Öğr. Üyesi Mushap KURU.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / / gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ

ÖNSÖZ

Gebelik çok farklı mekanizmalar içeren karmaşık, fizyolojik bir süreç olup, hayvanlarda nöroendokrin ve nöroimmün sistem dâhil birçok mekanizmayı etkilemesi nedeniyle organizmada oluşan akut faz yanıtıya bağlı olarak akut faz proteinlerin düzeylerinde artış veya azalışa neden olabilmektedir. Akut faz yanıtı, organizmada oluşan yangı, doku hasarı, enfeksiyon, neoplastik büyüme veya immünolojik bozukluklar sonucu oluşan homeostazise karşı organizmanın göstermiş olduğu nonspesifik bir reaksiyondur. Akut faz proteinleri sadece yangısal sürecin teşhis ve prognozunu belirlemek amacıyla değil, aynı zamanda gebelik, doğum, metabolik hastalıklar ve stres gibi yangısal olmayan durumların belirlenmesinde de kullanılabilir. Normal koşullarda, organizmada oksidan ve antioksidanlar denge halindedir. Ancak yangı, enfeksiyon ve stres gibi durumlarda bu denge oksidanlar lehine bozularak hücre ya da dokularda hasara neden olabilen oksidatif stres oluşturmaktadır. Oksidatif streste konsantrasyonu artan serbest radikaller; lipit, karbonhidrat, protein ve nükleik asit gibi molekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olurlar. Organizmada serbest radikallerin oluşturduğu hasarı ve/veya lipit peroksidasyonunu önlemek amacıyla görev yapan savunma sistemi antioksidan savunma sistemi (katalaz, redükte glutatyon vb.) olarak adlandırılmaktadır. Bu bilgiler ışığında çalışmadan elde edilen bulguların normal ve güç doğum yapan ineklerde doğum ve stres gibi yangısal olmayan durumlarda mekanizmanın aydınlatılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan, bilgi ve deneyimlerini her daim paylaşan, çalışmama ışık tutan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Oğuz MERHAN'a, desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Şaban MARAŞLI, Prof. Dr. Emine ATAKİŞİ, Doç. Dr. Metin ÖĞÜN ve Arş. Gör. Dr. Abdulsamed KÜKÜRT'e, ayrıca Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Mushap KURU, Veteriner Hekim Ahmet Serhat USLU ve Doktora öğrencisi Hanife ARDAHANLI'ya, tezimin hazırlanması sırasında daima moralimi yüksek tutan, bilgilerini paylaşan, enerjisi ile çalışmama yön veren can yoldaşım eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER ve KISALTMALAR	V
ŞEKİL DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Güç Doğum	2
2.1.1.Güç Doğum Olgusu ve İnsidensi	2
2.1.2.Güç Doğumun Sebepleri	2
2.1.2.1.İneklerde Güç Doğumların Hazırlayıcı Sebepleri	3
2.1.2.2.İneklerde Güç Doğumların Yapıcı Sebepleri	4
2.1.3.Maternal Güç Doğumlar	5
2.1.3.1.Doğum Kanalı Kaynaklı Güç Doğumlar	5
2.1.3.2.İtici Güçlerdeki Yetersizlikler	5
2.1.4.Fetal Güç Doğumlar	7
2.2.Akut Faz Yanıt	7
2.3.Akut Faz Proteinleri	10
2.3.1.Veteriner Hekimlikte Akut Faz Proteinlerinin Tanısal Kullanımı	10
2.3.2.Ruminantlarda Akut Faz Proteinleri	11
2.3.2.1.Pozitif Akut Faz Proteinleri	11
2.3.2.2.Negatif Akut Faz Proteinleri	12
2.4.Serbest Radikaller	12
2.5.Geçiş Dönemi İneklerinde Oksidatif Stres ve Etkileri	13
2.6.Lipit Peroksidasyonu	14
2.7.Antioksidanlar	15
3.MATERYAL ve METOT	16
3.1.Materyal	16
3.1.1.Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi	16
3.2.Metot	16

3.2.1.Analizler için Kullanılan Kimyasal Maddeler	16
3.2.2.Analizler için Kullanılan Ticari Kitler	17
3.2.3.Analizler için Kullanılan Cihazlar	17
3.2.4.Biyokimyasal Analizler	18
3.2.4.1.Serum Haptoglobin Düzeyi Ölçümü	18
3.2.4.2.Serum Seruloplazmin Düzeyi Ölçümü	19
3.2.4.3.Serum Albümin Düzeyi Ölçümü	20
3.2.4.4.Serum Malondialdehit Düzeyi Ölçümü	21
3.2.4.5.Tam Kanda Glutasyon Düzeyi Ölçümü	23
3.3.İstatiksel Analiz	25
4.BULGULAR	26
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	30
6.KAYNAKLAR	34
7.ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER ve KISALTMALAR

- g: Gram
mg: Miligram
mg/dL: Miligram/Desilitre
kg: Kilogram
 μ L: Mikrolitre
mL: Mililitre
mmol/L: Milimol/Litre
nm: Nanometre
g/L: Gram/Litre
 μ mol/L: Mikromol/Litre
g/dL: Gram/Desilitre
kDa: Kilodalton
TBA: Tiyobarbütirik Asit
TCAA: Triklorasetik Asit
EDTA: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
NaCl: Sodyum Klorür
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
Na₂HPO₄.2H₂O: Sodyum Hidrojen Fosfat
DTNB: 5,5' Dithiobis (2-Nitrobenzoik Asit)
-SH: Sülfidril
ACTH: Adrenokortikotropik Hormon
AFP: Akut Faz Proteinleri
CRP: C-Reaktif Protein
SAA: Serum Amiloid A
ROT: Reaktif Oksijen Türleri
MDA: Malondialdehit
GSH: Redükte Glutatyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Akut faz proteinlerinin üretimi ve düzenlenmesi	9
Şekil 2: MDA düzeyinin saptanmasında kullanılan kalibrasyon eğrisi	23
Şekil 3: Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum haptoglobin konsantrasyonunun değişimi	27
Şekil 4: Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum seruloplazmin konsantrasyonunun değişimi	27
Şekil 5: Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum albümin konsantrasyonunun değişimi	28
Şekil 6: Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum MDA konsantrasyonunun değişimi	28
Şekil 7: Normal ve güç doğum yapan ineklerde tam kanda GSH konsantrasyonunun değişimi	29

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Normal ve güç doğum yapan ineklerde akut faz protein düzeyleri	26
Tablo 2: Normal ve güç doğum yapan ineklerde MDA ve GSH düzeyleri	26

ÖZET

Normal ve Güç Doğum Yapan İneklerde Bazı Akut Faz Proteinlerinin ve Oksidatif Stres Düzeyinin Belirlenmesi

Çalışmanın amacı normal ve güç doğum yapan ineklerde bazı akut faz proteinlerinin ve oksidatif stres düzeyinin belirlenmesidir. Bu amaçla çalışmada, 15 adet normal ve 15 adet ise güç doğum yapan Simental ırkı inek kullanıldı. Hayvanların *V. jugularis*'inden kan örnekleri antikoagulanlı ve antikoagulansız tüplere alındı. Yapılan analizler sonucunda güç doğum yapan ineklerde haptoglobin, seruloplazmin ve malondialdehidin arttığı, albümin ve redükte glutatyon konsantrasyonunun ise azaldığı belirlendi. Sonuç olarak, yoğun stres altında olan ve müdahale ile doğumu gerçekleşmiş ineklerde, akut faz yanıtın ve oksidatif stresin arttığı görülmüştür. Özellikle güç doğumlarda müdahale yapılan ineklerde enfeksiyon oluşumunu engellemek amacıyla yapılacak uygulamalara ek olarak meydana gelen oksidatif strese karşı antioksidan uygulamaların da faydalı olabileceği kanısına varıldı. Bununla birlikte ineklerde güç doğumun önceden tahmin edilmesi içinde ilgili faktörlerin ölçümünün fayda sağlayabileceği ile ilgili yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Akut Faz Proteinleri, Güç Doğum, İnek, Oksidatif Stres

SUMMARY**Investigation of Some Acute Phase Proteins and Oxidative Stress Levels in Cows with Normal Parturition and Dystocia**

The aim of this study was to determine some acute phase proteins and oxidative stress levels in normal parturition and in cows with dystocia. For this purpose, 15 normal parturition and 15 cows with dystocia (Simental breed) were used in the study. Blood samples from *V. jugularis* of the animals were taken into tubes with and without anticoagulants. As a result of the analysis, it was determined that haptoglobin, ceruloplasmine and malondialdehyde increased in cows with dystocia while albumin and reduced glutathione concentrations decreased. In conclusion, it was observed that the acute phase response and oxidative stress were increased in cows that were under intensive stress and obstetric intervention during dystocia. It was concluded that antioxidant applications against oxidative stress may be beneficial in addition to the applications to prevent infection in cows, especially in dystocia. However, further studies are needed to estimate the effect of measuring related factors in predicting dystocia in cows.

Keywords: Acute Phase Proteins, Cow, Dystocia, Oxidative Stress

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Sığır işletmeciliğinin temel amacı anne ve yavrunun sağlığını bozmadan yüksek düzeyde verim elde etmektir. Bu nedenle de doğumların yıl içinde planlanması, normal ve güç doğum olgularının kavramsal olarak tanımlanması, takip edilmesi, kaydedilmesi son derece önemlidir (Mekonnen ve Moges 2016). Gebelik çok farklı mekanizmalar içeren karmaşık, fizyolojik bir süreç olup, embriyonun uterusu yerleşmesi sırasında akut faz reaksiyonu gerçekleşmektedir. Akut faz reaksiyon sonucunda da akut faz proteinleri (AFP) karaciğerden sentezlenmektedir (Murata ve ark. 2004).

Akut faz proteinleri organizmada oluşan yangı, enfeksiyon, doku hasarı, neoplastik gelişmeler ve bazı immünolojik hastalıklarda kanda konsantrasyonları artan (pozitif AFP) veya azalan (negatif AFP) bir grup proteinler olarak bilinmektedir (Murata ve ark. 2004, Petersen ve ark. 2004). Bu proteinlerin yüksek veya düşük düzeyde olması enfeksiyon, yangı, doku hasarı ve tümoral oluşumların tanısı ve prognozunda da büyük önem taşırlar (Whicher ve ark. 1991, Gruys ve ark. 2005). Buna ek olarak fertilizasyondan embriyonun uterusu yerleşmesine kadar olan süreçte akut faz yanıtın oluştuğu ve AFP'nin gebelik teşhisinde de kullanılabileceği bildirilmektedir (Eckersall ve Bell 2010). Yangı ve doku hasarında bir aracı olduğu ileri sürülen serbest radikal oluşumunda da bir artış gözlenmektedir (Sezer ve Keskin 2014). Artan serbest radikaller hücre membranı ve diğer hücre bileşenlerini etkileyerek hücrenin nekroz ve ölümüne, dolayısıyla doku hasarı ve kronik hastalıklara sebep olmaktadır (Tabakoğlu ve Durgut 2013).

Bu nedenle çalışmadaki amacımız normal ve güç doğum yapan ineklerde bazı AFP'lerin ve oksidatif stres düzeyinin belirlenmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Güç Doğum

Evcil hayvan türleri arasında güç doğum olguları en çok sığırlarda görülmektedir. Genel olarak evcil sığırların pelvik kanal yapıları fizyolojik ve metabolik durumları yetiştirildikleri ortamın çevresel koşulları güç doğum olguları için predispozisyon oluşturmaktadır (Purohit ve ark. 2011, Mekonnen ve Moges 2016). Doğumların yıl içinde planlanması, normal ve güç doğum olgularının kavramsal olarak tanımlanması, takip edilmesi, kaydedilmesi son derece önemlidir. Veteriner hekim, sürüde görülen güç doğum raslantılarını azaltma yönünde gerekli önlemleri almalı ve normalden fazla görüldüğü takdirde güç doğum olgularının olası sebeplerini sorgulamalıdır. Özellikle de gereksiz yere müdahale edilen normal doğumların güç doğum insidensini artırdığı gerçeğini de unutmamak gerekir (Mekonnen ve Moges 2016).

2.1.1.Güç Doğum Olgusu ve İnsidensi

İrklara göre değişmekle birlikte ineklerde ortalama gebelik süresi 282 ± 12 gündür. İnek ve düvelerde normal doğumun türe özgü zaman aralığında şekillenemediği veya herhangi bir yardım olmadan gerçekleşmediği ve çoğu zaman anne ile yavrunun yaşamlarının tehlikeye girdiği olgulara '*güç doğum*' denir. İneklerde güç doğum oranları % 3 ile % 10 arasında değişmektedir (Mekonnen ve Moges 2016).

2.1.2.Güç Doğumun Sebepleri

Genel olarak tek yavru doğuran (primipar) hayvanlarda çok yavru doğuran (multipar) hayvanlara göre daha fazla güç doğum olgusu görülür. İkiz gebelikler de çoğu zaman güç doğum sebebidir. İlk doğumlarda, izleyen doğumlara oranla daha sık güç doğum şekillenir. Erken sonlandırılan gebeliklerde, uterus tembelliğine ve fetal geliş bozukluklarına bağlı olarak güç doğumlar şekillenirken geciken doğumlarda fetüsün aşırı büyümesi nedeniyle güç doğum oluşur (Beagley ve ark. 2010, Purohit ve ark. 2011).

2.1.2.1. İneklerde Güç Doğumların Hazırlayıcı Sebepleri

Genel olarak tüm türlerde olduğu gibi ineklerde de güç doğumun genel sebepleri arasında; kalıtsal ve bireye özgü nedenler, çevresel koşullar, beslenme ve bakım koşulları, enfeksiyöz ve travmatik etkenler, kombine veya karışık faktörler şeklinde sıralanabilir. Güç doğum olgularının çoğunda en az iki veya daha fazla sayıda bu temel sebeplerin varlığı göz önünde bulundurulmalıdır (Roberts 2004).

Güç doğum olgularının kalıtsal sebepleri öncelikle ikiye ayrılabilir. Annede kalıtsal nedenlerle ortaya çıkarak güç doğumu predispoze hale getiren çeşitli defektler ve kalıtsal sebeplere bağlı olarak yavruda birçok gelişme anomalileri görülebilir (Apaydın 2015).

Bireye özgü nedenler arasında kalıtsal, çevresel, bakım ve beslenme ile ilgili bir veya birden fazla belirleyicinin etkisi altında gelişimini tamamlayan bireye özgü (intrinsik) faktörler değerlendirilmelidir (Purohit ve ark. 2011).

İlk doğumunu yapan düvelerde, gelişimini tamamlayamamış ya da beslenme yetersizliği nedeniyle canlı ağırlığı yetersiz genç bireylerde güç doğum insidansı oldukça yüksektir. Annenin büyüklüğü ve canlı ağırlığı arttıkça güç doğum rastlantı oranı düşmektedir. Pelvik çaplar ve annenin pelvik bölgesi, canlı vücut ağırlığı ve hacimsel gelişimine paralel olarak gelişim gösterir (Roberts 2004).

Yeni doğan buzağının canlı doğum ağırlığı arttıkça güç doğum oranları da artış göstermektedir. Erkek buzağılar dişilere göre daha ağırdır. Ayrıca erkek buzağı doğuran ineklerin gebelik süreleri daha uzundur. İkiz buzağılar tekil buzağılara göre daha küçük hacim ve ağırlıktadırlar. Çoğul doğumlarda güç doğum görülme sıklığı daha yüksektir. Doğum anında uygun şekilde rotasyonunu tamamlayamayan buzağılar transversal posteriyör longitudinal presentasyon ile pelvik kanala giriş yaparlar ve geliş biçimleri birer güç doğum sebebidir (Honparkhe ve ark. 2003).

Gelişimini tamamlamadan gebe bırakılan hayvanlarda, pelvis gelişmesi tamamlanmadığı için güç doğumlar görülür. Düvelerde en uygun tohumlama yaşı 16 (12-20) aydır. Yetiştirme şekli de güç doğum sıklığını etkiler. Küçük cüsseli ineklerin, iri ırklarla tohumlanması güç doğum riskini önemli ölçüde artırmaktadır.

Bundan dolayı küçük cüsseli ancak pelvis ölçüleri geniş ırkların yetiştirilme çalışmaları yapılmaktadır (Noakes ve ark. 2001, Apaydın 2015). Aşırı beslenme pelvis bölgesinde fazla yağlanmaya sebep olduğu için doğumu güçleştirir ve doğumlarda vaginal bölgede yaralanma olasılığını artırır. Aşırı beslenen ineklerde doğum süresinin uzadığı ve güç doğumların oranında önemli artışlar görülür. Vitamin A ve D eksiklikleri pelvis deformasyonlarına ve yavru ölümlerine sebep olur (Apaydın 2015).

Günümüzün en büyük problemlerinden olan çevre kirlenmesi ve gürültü hayvanlarda güç doğumların ortaya çıkmasında da önemli rol oynamaktadır. Çevrenin kirlenmesi, yem bitkileri ve yemlerde zararlı maddelerin birikmesine, gebe hayvanlar tarafından yenmesiyle de güç doğuma sebep olan birçok bozukluğun ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Johansen ve Berger 2003, McClintock 2004).

Gebelikte uterusu etkileyen enfeksiyonlar, yavrunun ölümü, yavru atma, septik metritis ve uterus tembelliğine sebep olurlar. Brusellozis ve salmonellozis gibi bazı spesifik enfeksiyonların görüldüğü sürülerde olası diğer enfeksiyonlara göre daha fazla güç doğum gözlenir (Roberts 2004, Apaydın 2015).

Fetopelvik orantısızlık nedeniyle şekillenen güç doğumların görülme sıklığını azaltmakla birlikte doğumların indüklenmesi uygulamaları, fetüsün pozisyon bozukluklarına, serviks dilatasyon yetersizliklerine ve fetal zarların retensiyonunda artışa yol açabilir (Roberts 2004).

2.1.2.2. İneklerde Güç Doğumların Yapıcı Sebepleri

Genel bir ifade ile inek ve düvelerde güç doğumlar anneden ve yavrudan kaynaklanan sorunlar sebebiyle meydana gelir. Bunlardan annede ortaya çıkan anomalilere bağlı güç doğumlara '*maternal güç doğumlar*', yavruya ortaya çıkan sorunlara bağlı güç doğumlara ise '*fetal güç doğumlar*' adı verilir (Roberts 2004, Apaydın 2015).

2.1.3. Maternal Güç Doğumlar

Maternal güç doğumlar, pelvis kanalının doğuma izin verecek kadar geniş olmaması veya doğumda gerekli olan itici gücün yetersiz kalması sonucu ortaya çıkar (Noakes ve ark. 2001, Apaydın 2015).

2.1.3.1. Doğum Kanalı Kaynaklı Güç Doğumlar

Doğum kanalının veya bir bölümünün doğuma izin vermeyecek şekilde daralmasına neden olan sorunlar bu başlık altında incelenebilir. Kemik ve yumuşak doğum kanalının doğmasal veya edinsel her türlü obstruktif sorunu doğum kanalı yetersizliğine bağlı güç doğumlara neden olur. Çeşitli kemik hastalıkları, hematoma, vagina tümörleri ve kistlerden oluşan giderilebilir daralmalara da yalancı '*pelvik kanal darlığı*' denir (Apaydın 2015). Serviksin tam açılmaması olgusu, serviks uterusun spazmı, sklerozu, prolapsus vagina nedeniyle açılmama gibi problemlerle kendini gösterir (Berger ve ark. 1992).

Doğumun normal fizyolojik süreci içinde vulva ve vaginada gerçekleşen relaksasyon, sıklıkla ve özellikle düvelerde tam olarak şekillenmeyebilir. İlk doğumunu yapan ham düvelerde yetersiz gelişmiş vulva-vaginadan dolayı güç doğumlar meydana gelir. İneklerde vaginal tümörler çok yaygın olmamakla birlikte ara sıra vagina duvarına bağlı leiomyomlar palpe edilebilir. Güç doğuma neden olan tümöral yapılar hekim tarafından verilecek bir karar ile klasik cerrahi yöntemler ile kürete edilerek uzaklaştırılabilir. Böylece güç doğum olgusu önlenmiş olur (Roberts 2004).

2.1.3.2. İtici Güçlerdeki Yetersizlikler

Fetüs ve fetal keseler pelvik kanala doğru ilerletildiğinde buradaki sensör sinir reseptörleri uyarılır. Bu uyarımlar ağrı duyusu ile birlikte annenin kaslarına katılır. Bütünüyle fizyolojik olan bu kas kontraksiyonları şiddeti giderek yoğunlaşan doğum sancıları olarak isimlendirilir. İneklerde doğum sancıları daha az görülür. Bu da doğumun yarıda kalmasına neden olur (Purohit ve ark. 2011).

Doğum sancılarındaki asıl sorun yetersiz kalan sancılardır. Bunlar kasılmalarındaki yetersizlikler ve uterus tembelliğidir. Genellikle sancıya sebep olan diyafram fitiği, travmalar ve iç hastalıklardır. Uterus tembelliği olguları; primer ve sekonder uterus tembelliği olarak isimlendirilir (Noakes ve ark. 2001, Apaydın 2015). Primer uterus tembelliği, uterus kaslarının tonositesinde bir azalma veya kasılma gücünü tamamen kaybetme anlamını ifade eder. İnek ve düvelerde sıklıkla görülebilir. Doğumun bir ve ikinci evrelerinde görülür (Apaydın 2015). En yaygın nedeni hipokalsemidir. Buzağılama ile birlikte inekte hipokalsemi belirtileri ile birlikte seyreder. Doğum anında kas kontraksiyonlarındaki yetersizlikler, egzersiz noksanlığı, aşırı yağlanma, güçsüzlük ve yaşlılık toksik dejenerasyon beslenme yetersizlikleri kalıtıma bağlı nedenlerle ortaya çıkar (Noakes ve ark. 2001). Sekonder uterus tembelliği ise genellikle uzun süren güç doğumlardan sonra ortaya çıkar. Sebebi miyometriyumun aşırı yorgunluğudur. İnek ve düvelerde primer tembelliklere göre daha sık görülür. Pozisyon bozuklukları ya da ikiz gebelikler gibi doğum sürecini geciktirerek uterus kaslarının aşırı derecede yorulmasını müteakip oluşur. Bu durum oldukça tehlikeli olup, çoğu zaman kanaldaki yavru ölüm tehlikesi ile karşılaşılır (Roberts 2004, Apaydın 2015).

Uterusun genel anatomik durumundaki bu bozukluklar hem yumuşak doğum kanalının genişleyememesi hem de doğum sürecinde gerekli olan itici gücün yetersiz kalması sonucunu doğurur. Torsiyo uteri, uterusun uzun eksenini boyunca burulmasıdır. Torsiyo uteri vakalarının büyük kısmında, ineğin arkasında duran hekimin bakış açısıyla, saat yönünün tersi yönünde burulma gerçekleşir. Bütün hayvanlarda görülebilir, ancak en çok süt sığırlarında görülür. İnekte torsiyo uteri sık rastlanılan güç doğum sebepleri arasındadır. Deviasyo uteri/hernia uteri, gebe hayvanda uterusun sağa, sola, aşağı ve yukarı dirseklenmesi sebebiyle, anne ve yavru eksenleri arasında uyumsuzluk görülmesidir. Bu tip olgularda gebe uterus desteksiz kalır ve kısmen fitiklaşır. Uterusun kaudali ve serviks gerilerek pelvik açıklığın hemen önünde keskin bir biçimde aşağıya doğru yönelir (Roberts 2004, Mekonnen ve Moges 2016).

2.1.4.Fetal Güç Doğumlar

Fetal güç doğumlar genel olarak yavrudan kaynaklanan sorunlarla, doğum kanalı ile yavru arasında, doğumda yavrunun geçişini engelleyen, uyumsuzluklara bağlı olarak ortaya çıkar (Apaydın 2015). İnek ve düvelerde, fetüsün hacimsel büyüklüğü ile annenin pelvik kanalı arasındaki orantısızlık en önemli güç doğum sebeplerinin başında gelir. Irk özelliğine bağlı olarak yavru büyüklüğü normal, annenin doğum kanalı darsa bu tip yavru büyüklükleri '*relatif büyüklük*', ana normal olduğu halde yavru normalden büyükse, buna da '*absolut büyüklük*' denir. Sahada absolut yavru büyüklüklerine daha çok rastlanılmaktadır (Apaydın 2015).

Fetüs ölümleri güç doğumlara neden olur. Fetal ölümler; fetüs tarafından salgılanan ve doğum sürecini başlatan kortizol ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) hormon düzeyleri yetersizliği, serviksin tam dilate olmaması ve normal doğum pozisyonu almamış fetüsler gibi çok çeşitli nedenlerle şekillenmektedir (Roberts 2004).

Normal bir doğumda buzağı annenin omurga sütunu altında dorsal pozisyonda bulunur. Pozisyon bozuklukları öncelikle ventral ve lateral pozisyonlar olarak gözlenir. Yapılacak müdahale sırasında fetüse uygulanacak olan kuvvet mümkün oldukça omuz ya da kalçasına yakın bölgelerinde yapılmalıdır (Anderson 2012).

İnek ve düvelerde duruş bozukluklarına bağlı güç doğumlar, fetopelvik orantısızlığa bağlı güç doğumlardan sonra en sık rastlananlardır. İneklerde düvelere göre daha sık duruş bozuklukları görülür (Roberts 2004). Başın yana bükülmesi, başın alta bükülmesi, ön bacakların retensiyonu, arka bacakların retensiyonu sık görülen duruş bozukluklarıdır (Noakes ve ark. 2001, Apaydın 2015).

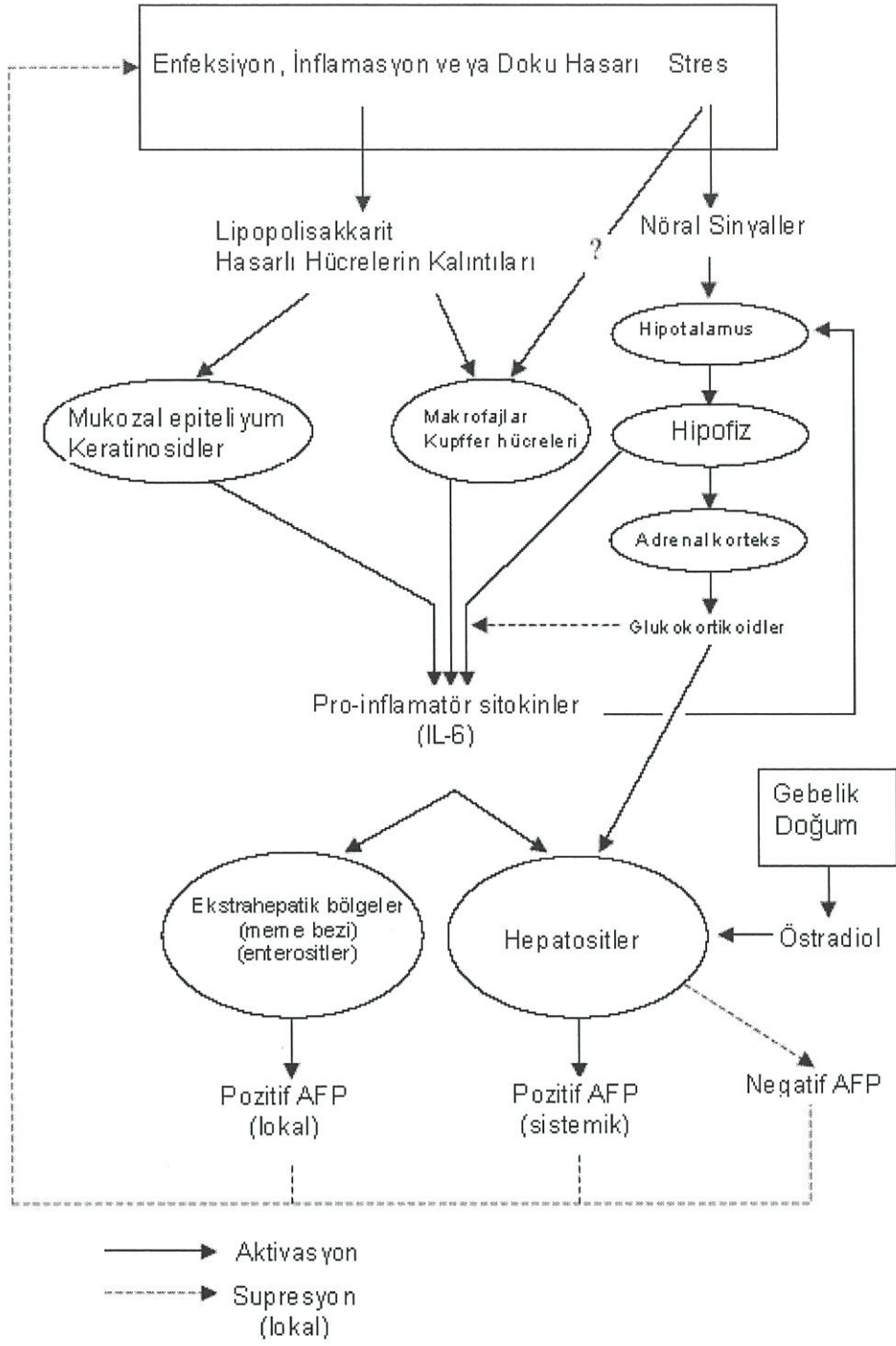
2.2.Akut Faz Yanıt

Akut faz yanıt, enfeksiyon, yaralanma, travma, enflamatuvar süreçler ve bazı olumsuz süreçlerden kısa süre sonra ortaya çıkan bir grup fizyolojik süreci temsil eder. Davranışsal, fizyolojik, biyokimyasal ve beslenme değişikliklerinin büyük bir kısmından oluşan oldukça koordineli bir süreçtir (Ceciliani ve ark. 2012, Tothova ve ark. 2014). Bu değişikliklerin amacı enfeksiyöz ajanların izole edilmesi ve yok

edilmesi, homeostazinin düzeltilmesi ve iyileşme süreçlerinin desteklenmesidir (Janeway ve ark. 2001).

Akut faz reaksiyonu, doğuştan gelen immün sisteme (yani makrofajlar, monositler) dâhil olan hücrelerin enflamatuvarlı bölgelerinde başlar. Bu reaksiyonda çok sayıda enflamatuvarlı savunma aracı üreten ve salgılayan sitokinler (örneğin interlökin 6 ve tümör nekroz faktör-alfa) çok önemli bir rol oynar (Bochsler ve Slauson 2002). Hormonal veya metabolik olaylar dâhil olmak üzere karakteristik klinik değişimlerin ortaya çıkışını hızlandıran ateş, iştahsızlık, kilo kaybı ve buna ek olarak sitokinler sistemik enflamatuvarlı reaksiyonlara yol açan farklı hedef hücreler üzerindeki reseptörleri aktive eder ve bu bir dizi biyokimyasal değişikliklerle sonuçlanır. Böylelikle ACTH ve glukokortikoidlerin üretimi artar, kan pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu azalır, serum kalsiyum, çinko, demir ve A vitamini konsantrasyonları ve bazı proteinlerinin konsantrasyonlarındaki değişiklikler ortaya çıkar (Gabay ve Kushner 1999).

Sığırlarda fiziksel stresin AFP'leri artırdığı bildirilmektedir. Bu stresin oluşturduğu sinyal hipotalamustan sonra hipofiz ve adrenal korteksi aktive ederek sitokin üretimini uyarmakta böylece karaciğerde AFP sentezi artarak dolaşıma verilmektedir. Sağlıklı sığır, at ve köpeklerde gebelikte, ayrıca sığırlarda karaciğer yağlanmasında veya açlığı takiben deksametazon uygulanmasının bir sonucu olarak glukokortikoid veya östradiollere yanıt olarak AFP üretiminin arttığı kaydedilmiştir. Glukokortikoidler pro-enflamatör sitokinleri baskılayarak antienflamatörleri regüle etmekte ve böylece AFP sentezi başlatılmaktadır (Murata ve ark. 2004).



Şekil 1. Akut faz proteinlerinin üretimi ve düzenlenmesi (Murata ve ark. 2004).

2.3.Akut Faz Proteinleri

Akut faz proteinleri organizmada oluşan yangı, enfeksiyon, doku hasarı, neoplastik gelişmeler ve bazı immünolojik hastalıklarda kanda konsantrasyonları artan veya azalan bir grup proteinler olarak bilinmektedir (Petersen ve ark. 2004, Tothova ve ark. 2014). AFP'ler organizmada oluşan yangı, enfeksiyon, doku hasarı, neoplastik gelişmeler ve bazı immünolojik hastalıklarda kanda konsantrasyonları artan (pozitif AFP) veya azalan (negatif AFP) bir grup proteinler olarak bilinmektedir (Murata ve ark. 2004, Petersen ve ark. 2004, Ceron ve ark. 2005). Bu proteinlerin uyarımdan sonraki 24-48 saat içinde belirgin bir şekilde arttığı ve genellikle çok kısa yarı ömürleri nedeniyle hızlı bir düşüş gösterdikleri gözlemlenmiştir (Niewold ve ark. 2003).

Akut faz proteinlerin ana işlevi, konakçayı patolojik hasara karşı savunmak, homeostazinin restorasyonu ve enflamasyonun farklı aşamalarının düzenlenmesine yardımcı olmaktır (Petersen ve ark. 2004). Bazı AFP'ler (alfa 1-antitripsin, alfa 2-makroglobulin) normal dokulara verilen hasarı en aza indirmek için fagositler veya patojenler tarafından salınan proteazları inhibe etmek üzere tasarlanmış anti-proteaz aktivitesine sahiptir. Diğer AFP'ler (haptoglobin, serum amiloid A (SAA), C-reaktif protein 'CRP') temizleme aktivitelerine sahiptir ve hücrel bozulmadan salınan metabolitleri bağlar (Wagener ve ark. 2002). Diğerleri (α 1-asit glikoprotein), antibakteriyel aktivite ve bağışıklık yanıtının seyrini etkileme yeteneği ile karakterize edilir (Fournier ve ark. 2000).

2.3.1.Veteriner Hekimlikte Akut Faz Proteinlerinin Tanısal Kullanımı

Birçok farklı hastalığı olan hayvanlarda yüksek konsantrasyonlarda olan AFP'lerin hastalığın nedenlerini saptamada çok zayıf tanısal özgüllüğe sahip olmasının yanısıra belirli bir hastalığın tanısı için de birincil test olarak kullanılamazlar. Öte yandan, hayvan sağlığını değiştiren subklinik enflamatuvar ya da enfeksiyonlarını ortaya koyan birçok durumu saptamak konusunda çok yüksek hassasiyetleri vardır (Ceron ve ark. 2005). AFP'ler subklinik hastalıkların varlığının ortaya koyulmasında kullanılabilir (Petersen ve ark. 2004, Tothova ve ark. 2014).

2.3.2.Ruminantlarda Akut Faz Proteinleri

Beşeri hekimlikte çeşitli hastalık ve rahatsızlıkların tespitinde biyobelirteçler olarak kullanılan birçok AFP vardır (Tothova ve ark. 2014). Bunun yanısıra bunlardan bazıları yaygın olarak sadece ruminantlarda teşhis amacıyla kullanılabilir. Ruminantlarda teşhis amacıyla kullanılan en önemli AFP'ler haptoglobin ve SAA'dır (Eckersall ve Bell 2010).

2.3.2.1.Pozitif Akut Faz Proteinleri

Haptoglobin, disülfid köprüleri ile birbirine bağlanmış 2 α ve 2 β zincirinden oluşur (Morimatsu ve ark. 1991). Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 1000-2000 kDa olan haptoglobin yüksek oranda polimerize edilir ve albümin ile ilişkili bir polimer olarak da bulunur (Godson ve ark. 1996). Parçalanan eritrositlerden açığa çıkan hemoglobini bağlayan haptoglobinin, birçok fonksiyonu bulunmakla beraber esas fonksiyonu kandaki serbest hemoglobinle çok kararlı kompleksler oluşturması ve bu yolla demir kaybının önlenmesidir (Yang ve ark. 2003, Petersen ve ark. 2004). Çeşitli hastalıklara sahip sığırlarda enflamatuvar yanıtın ortaya çıkışını ve hastalığın şiddetini ölçmek için klinik olarak kullanılan haptoglobin yararlı bir parametredir (Eckersall 2000).

Tek bir polipeptid zincirinden oluşan ve bir α_2 -globulin olan seruloplazmin kandaki başlıca bakır taşıyıcı protein olan bir ferrokسيدaz enzimidir ve demir metabolizmasında rol oynar (Lovstad 2006). Seruloplazmin, insan plazmasındaki toplam bakırın yaklaşık % 70'ni taşır böylece bakır homeostazisinde yer alabilir (Martinez-Subiela ve ark. 2007). Seruloplazmin, hayvan sağlığı ve refahının bir belirteci olarak değerlendirilmiştir (Skinner 2001). Sığırlarda yapılan pek çok çalışma seruloplazminin birçok hastalık durumlarında teşhis edici olduğunu göstermiştir (Sheldon ve ark. 2002, Szczubial ve ark. 2008). Chassagne ve ark. (1998) süt ineklerinde seruloplazmi mastitis olgularının teşhisinde bir gösterge olarak değerlendirmişlerdir. Genç hayvanlarda yapılan çalışmalar, serumda seruloplazmin konsantrasyonlarının pnömonik pastörelloz sırasında arttığını, en yüksek konsantrasyonlarının inokülasyonundan 2 ve 4 saat sonra gözlemlendiğini göstermiştir (Fagliari ve ark. 2003).

2.3.2.2.Negatif Akut Faz Proteinleri

Albümin negatif bir akut faz proteindir. Akut faz yanıt sırasında, pozitif AFP'lerin sentezi için aminoasitlere olan ihtiyaç belirgin bir şekilde artmaktadır ve bu da hepatik protein sentezini gerekli kılmaktadır. Buna bağlı olarak da albümin sentezi azalır ve aminoasitler pozitif AFP'lerin sentezine yönlendirilir (Tothova ve ark. 2014). Akut faz yanıt sırasında, hepatik protein anabolik kapasitenin % 30-40'nın pozitif AFP'lerin üretimi için kullanıldığı rapor edilmiştir (Mackiewicz 1997). Böylece diğer proteinlerin üretiminin kısıtlanması gerekir. Albümin, osmotik plazma basıncının yaklaşık % 75'inden sorumludur ve gerektiğinde hayvan tarafından kullanılacak önemli bir aminoasit kaynağıdır (Tothova ve ark. 2014).

Albümin, 69 kDa'luk molekül ağırlığına sahip bir globüler proteindir. Küçük boyutu ve bolluğu nedeniyle albümin plazma kolloid ozmotik basıncına büyük katkıda bulunur. Aynı zamanda birçok çözünmeyen organik madde (örneğin konjuge olmayan bilirubin) için taşıyıcı bir protein olarak rol oynar. Bunun yanısıra yaklaşık 14-20 günlük bir yarı ömrü olan albümin, kronik beslenme durumunun bir belirteci olarak da bildirilmektedir (Don ve Kaysen 2004, Tothova ve ark. 2014).

2.4.Serbest Radikaller

Moleküllerdeki atomların uzayda kapladıkları yere orbital adı verilir. Her orbitalde biri saat yönünde diğeri de tersi yönde hareket eden iki elektron bulunur. Eğer bir orbitalde yalnızca bir adet elektron bulunuyorsa buna eşleşmemiş elektron denir. Serbest radikaller ise dış orbitalinde tek sayıda eşleşmemiş elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Kimyasal formüllerde bu elektron bir nokta ile (OH[•]) gösterilir (Halliwell 1996). Serbest radikaller organizmada normal metabolizma sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Özellikle reaktif oksijen türleri (ROT), kimyasal ve radyasyon yaralanmaları, oksijen ve diğer gaz yaralanmaları, hücre yaşlanması, enflamatuvar hasar ve makrofajlarla tümör destrüksiyonu gibi pek çok olay sonucu oluşurlar (Nakazawa ve ark 1996).

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında meydana gelen enzimatik reaksiyonlarda ara ürünler olarak, enzimlerin aktif yerinde devamlı oluşturmaktadırlar. Ara ürünler olarak bilinen ROT ve reaktif nitrojen türleri bazen moleküler oksijenle etkileşmekte ve serbest oksijen radikallerini meydana getirmektedirler. Kararsız yapıdaki bu oksijen türleri, kararlı hâle gelmek için hücrelere saldırmakta ve hücre bileşenlerine zarar vererek çeşitli hastalıklara yol açmaktadırlar (Sezer ve Keskin 2014).

2.5.Geçiş Dönemi İneklerinde Oksidatif Stres ve Etkileri

Vücudun antioksidan savunma sistemi ile serbest radikaller arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması sonucu lipid peroksidasyonu ve serbest radikal/ROT'un açığa çıkması durumuna oksidatif stres denilmektedir. Oksidatif stres, hücre membranı ve diğer hücre bileşenlerinin oksidatif hasarına yol açarak hücrenin nekroz ve ölümüne, dolayısıyla doku hasarı ve kronik hastalıklara sebep olmaktadır (Tabakoğlu ve Durgut 2013, Sezer ve Keskin 2014).

İneklerde en yoğun metabolik ve hormonal değişiklikler, doğumun yaklaştığı ve süt sentezinin başladığı dönemi kapsayan periparturient dönemde gerçekleşmektedir. Bu dönem gebelikten laktasyona geçiş olduğundan bu dönem '*geçiş dönemi*' olarak adlandırılmaktadır. Geçiş dönemi 6 haftalık bir süreç olup, doğum öncesi ve doğum sonrası ilk 3 haftayı kapsamaktadır. İneklerde geçiş döneminde meydana gelen metabolik değişiklikler, gebelik ve laktasyon sürecinin herhangi bir döneminde meydana gelen metabolik değişimlerinden çok daha etkileyicidir (Grummer 1995). Bu dönemde süt sığırlarında birçok metabolik (süt humması, abomazumun yer değiştirmesi, yağlı karaciğer ve ketozis gibi), enfeksiyöz (mastitis, meme ödemi, laminitis) ve üreme (güç doğum, plasentanın atılamaması ve uterus enfeksiyonları) bozuklukları meydana gelmektedir (Büyükoğlu ve Aslan 2018). Bu değişikliklerin temelini doğum stresinden kaynaklanan hormonal değişiklikler ve artan besin ihtiyacı oluşturmaktadır (Drackley 1999).

Sığırlar geçiş dönemlerinde çeşitli faktörlerin etkisinde kalmaktadır. Hayvanların refah, huzur, beslenme durumu ve hastalıklarıyla doğrudan ilişkili olan

stres faktörü hayvanların genel durumunu değerlendirmede önemli bir belirteçtir (Büyükoğlu ve Aslan 2018).

Fetal büyüme ve laktasyon için enerji ihtiyacının artması sonucu geçiş döneminde oksijen ihtiyacı ve dolayısıyla ROT'un üretimi artmaktadır. Geçiş döneminde artan ROT üretimi ve birikimini azaltmak için gerekli antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik, sığırlarda oksidatif stres artışına yol açmaktadır. Hayvanlarda oksidatif stres sonucu lipit ve proteinler oksidasyona uğramaktadır. Antioksidan enzimler, serbest radikalleri indirgeyerek lipit peroksidasyonunu ve bunun sonucunda oluşacak hasarı önlemede rol oynamaktadır. Oksidatif stres, özellikle geçiş periyodu sırasında süt sığırlarının hastalıklara duyarlılığını artıran immün ve enflamatuvar bozuklukların altında yatan temel sebeplerden biridir (Büyükoğlu ve Aslan 2018).

2.6.Lipit Peroksidasyonu

Lipitler serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler. Uzun zincirli doymamış yağ asitleri birden çok çift bağ içerir ve metilen grupları bulundurlar. Metilen grupları oksidan maddelere karşı yüksek reaktiviteye sahip olup uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile ilk ürün olarak peroksil radikal oluştururlar (Rio ve ark. 2005). Stres varlığı lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesinde artışa yol açmaktadır. Bu nedenle MDA seviyesindeki artış lipit peroksidasyonunun dolayısıyla da stres varlığının göstergesidir (Büyükoğul ve Arslan 2018). Serbest radikaller birçok moleküllerle reaksiyona girerler ve iki radikal ajan bir araya gelirse elektronlarını paylaşarak kovalent bağ oluştururlar. MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranların iyon alışverişine etki ederek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu gösterilmiştir (Rio ve ark. 2005).

2.7. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği hasarı önlemek üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidan savunma sistemleri adı verilmektedir. Antioksidan olarak görev yapan birçok farklı madde bulunmaktadır. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROT'u toplayarak lipid peroksidasyonunu engellemenin yanısıra oksidatif hasarın DNA'ya olan etkisini ve hücre bölünmesindeki anormal artışı azaltarak kansere karşı koruyucu etki yapmaktadırlar. Antioksidanlar endojen kaynaklı veya ekzojen kaynaklı olabilmektedirler (Sezer ve Keskin 2014). Endojen antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılabilir. Enzimatik antioksidanlar, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazdır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise, vitamin E, beta karoten, vitamin C, melatonin, redükte glutatyon (GSH), albümin, bilirubin, ürik asit ve ferritindir (Akkuş 1995). Endojen ve ekzojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini sağlamak için serbest radikallerden vücudu korur ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılırlar (Sen ve Chakraborty 2011).

Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen glutatyon (γ -glutamil sisteinil glisin), oksidan atom veya moleküller ile redoks reaksiyonları arasındaki dengenin korunmasında fonksiyon görerek hücreyi oksidatif strese karşı koruyan ve tiyol grubu taşıyan bir tripeptiddir (Masella ve ark. 2005).

3.MATERYAL ve METOT

Bu çalışmaya, Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) Başkanlığının 26.02.2019 tarih ve 2019/028 kodlu etik kurul onayı alındıktan sonra başlanmıştır.

3.1.Materyal

Çalışmanın hayvan materyalini Kars merkezde özel bir işletmede yetiştiriciliği yapılan, 3-5 yaşlı, en az bir doğum yapmış, klinik olarak sağlıklı 30 adet inek oluşturdu. İşletmede benzer zamanlarda 15 adet normal ve 15 adet güç doğum yapan Simental ırkı inek kullanıldı. Her türlü yardım gerektiren doğum olguları güç doğum olarak, hiç yardım gerekmeksizin kendiliğinden doğum şekillenen olgular ise normal doğum olarak kabul edildi.

3.1.1.Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi

Çalışmada yer alan ineklerin *Vena jugularis*'inden doğum sonrası (3-48 saat arasında) alınan kan örneklerinden bir miktarı antikoagulanlı (EDTA) tam kan olarak ayrıldıktan sonra, antikoagulansız tüplere alınan örnekler ise 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları elde edildi. Serumlar analizler yapılmaya kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.Metot

3.2.1.Analizler için Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Eter (Merck)
2. Potasyum Ferrosiyamid (Merck)
3. Hidrojen Peroksit (Merck)
4. Guiacol (Merck)
5. Haptoglobin Standart Çözeltisi (Sigma)
6. p-Fenilendiamin (Sigma)
7. Glasiyal Asetik Asit (Merck)
8. Sodyum Asetat Trihidrat (Merck)
9. Sodyum Hidroksit (Merck)

10. Sodyum Azid (Merck)
11. Triklor Asetik Asit (Merck)
12. Tiyobarbütirik Asit (Merck)
13. 1,1,3,3-Tetraetoksiopropan (Sigma)
14. n- Bütanol (Merck)
15. Metafosforik Asit (Merck)
16. Etilen Diamin Tetraasetik Asit (Merck)
17. Sodyum Klorür (Sigma-Aldrich)
18. Sodyum Hidrojen Fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck)
19. Sodyum Sitrat (Merck)
20. 5,5' Dithiobis (2-Nitrobenzoik Asit) (DTNB) (Sigma)
21. Redükte glutatyon (GSH) (Merck)

3.2.2. Analizler için Kullanılan Ticari Kitler

1. Albümin (Biolabo, Fransa)

3.2.3. Analizler için Kullanılan Cihazlar

1. Spektrofotometre (Microplate Reader Epoch, Shimadzu UV-1201)
3. Santrifüj (Nüve)
4. Etüv (Nüve)
5. Su Banyosu (GFL1083)
6. Otomatik Pipetler (Eppendorf, 0,5–10 μL , 10–100 μL , 100–1000 μL)
7. Hassas Terazî (Scaltec)
8. Vorteks (Labinco–524)
9. Derin Dondurucu (Bosch)
10. pH Metre (inoLab)

3.2.4.Biyokimyasal Analizler

Elde edilen serum örneklerinde haptoglobin, seruloplazmin, albümin, MDA, tam kanda ise GSH analizleri yapıldı.

3.2.4.1.Serum Haptoglobin Düzeyi Ölçümü

Serumda haptoglobin tayini spektrofotometrik olarak Skinner ve ark. (1991) bildirdiği metot ile yapıldı.

Prensip: Serum haptoglobin düzeyi, hemoglobin bağlama kapasitesi belirlenerek ölçülür. Buna göre serbest ve haptoglobine bağlı hemoglobin arasındaki peroksidaz aktivitesi farkı serum haptoglobin konsantrasyonunu vermektedir.

Deneyde Kullanılan Çözeltiler:

1.Methemoglobin Solüsyonu: 8 hacim inek eritrositi 3 hacim fizyolojik tuzlu su ve 1 hacim eter ile 3 kez yıkandı. Temiz hemolizat pipetlendi ve hemoglobin konsantrasyonu standart hemoglobin konsantrasyonu belirleme yöntemi ile belirlendi. 1 g/dL olacak şekilde sulandırıldı. Bu çözeltinin 25 mL'si 10 mL potasyum ferro siyanid ile karıştırıldı. Kullanmadan önce distile su ile 0,278 g/L olacak şekilde sulandırıldı.

2.Hidrojen Peroksit (0,02 M): 204 µL H₂O₂ alındı ve distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Günlük olarak hazırlandı.

3.Guiacol (0,06 M): 6,82 g guiacol ve 183 mL 1 M asetik asit 700 mL distile suda çözülüp, litreye tamamlanarak pH'sı 4'e ayarlandı.

4.Haptoglobin Standart Çözeltisi: 1 g/L haptoglobin içermektedir.

5.Kör Serum: Klinik olarak sağlıklı inek serumu.

6.Potasyum Ferrosiyamid Çözeltisi (100 mg/dL): 100 mg potasyum ferrosiyamid alındı ve distile suda çözülerek hacim 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Pipetleme işlemi aşağıdaki şekilde yapıldı.

	Test	Kör	Standart
Serum	10 µL	-	-
Kör serum	-	10 µL	-
Standart çözeltisi	-	-	10 µL
Methemoglobin	90 µL	90 µL	90 µL
25 °C su banyosunda 10 dakika karanlıkta inkübasyon			
Guiacol	1,5 mL	1,5 mL	1,5 mL
H₂O₂	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
25 °C su banyosunda 8 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı.			
470 nm'de suya karşı okundu.			

Hesaplanması:

A test – A kör

Haptoglobin Konsantrasyonu (g/L) = $\frac{\text{A test} - \text{A kör}}{\text{A std} - \text{A kör}} \times \text{Std. Kons.}$

A std – A kör

Standart Konsantrasyonu: 1 g/L

3.2.4.2.Serum Seruloplazmin Düzeyi Ölçümü

Serumda seruloplazmin tayini spektrofotometrik olarak Colombo ve Richterich'in (1964) bildirdiği metot ile yapıldı.

Prensip: Seruloplazmin bir enzim olarak renksiz bir madde olan fenilen diamin mavimsi menekşe renkli ürüne oksitler. Serumdaki bu etki deneyde belirli bir zamanda ve deney köründe daha başında sodyum azid katılarak durdurulur ve spektrofotometrik olarak ölçülür.

Deneyde Kullanılan Çözeltiler:

1.Asetat tamponu (0,43 M): 1,34 mL glasiyal asetik asit ve 26,44 g sodyum asetat distile suda çözülüp, litreye tamamlanarak pH'sı 5,6'ya ayarlandı.

2.Fenilen diamin substrat çözeltisi (7,95 mM): 144 mg fenilen diamin dihidroklorür, 100 mL asetat tamponunda çözülerek hacmi litreye tamamlandı ve pH'sı 5,6'ya ayarlandı. Günlük olarak hazırlandı.

3.Sodyum azid çözeltisi (460 mM): 3 g sodyum azid distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Pipetleme işlemi aşağıdaki şekilde yapıldı.

	Test	Kör
Fenilen diamin substrat çözeltisi	5 mL	5 mL
Sodyum azid	-	1 mL
Serum	0,1 mL	0,1 mL
Karıştırıldı ve 37 °C'lik etüvde 15 dakika inkübasyona bırakıldı.		
Sodyum azid	1 mL	-
546 nm'de distile suya karşı okundu.		

Hesaplanması:

Seruloplazmin (mg/dL) = 237 x (A test – A kör)

3.2.4.3.Serum Albümin Düzeyi Ölçümü

Serum albümin düzeyi ölçümü ticari test kiti ile (Biolabo, Fransa) spektrofotometrik olarak yapıldı.

Prensip: Serum albümini, bromkrezol yeşili varlığında zayıf asidik pH (pH= 4,2) ortamında indikatörün rengini sarı-yeşilden yeşil-maviye dönüştürür.

Deneyde Kullanılan Çözeltiler:

1. Reaktif: Süksinik asit (83 mmol/L), bromkrezol yeşili (BCG) (167 µmol/L), sodyum hidroksit (50 mmol/L), polioksietilen monolauril eter (1 g/L) ve koruyucu

2. Standart: 5 g/dL (725 µmol/L)

Deneyin Yapılışı:

Pipetleme işlemi aşağıdaki şekilde yapıldı.

	Kör	Standart	Test
Serum	-	-	5 µL
Standart çözeltisi	-	5 µL	-
Distile su	5 µL	-	-
Reaktif	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Karıştırıldı, 3 dakika inkübasyona bırakıldı.			
Absorbansı reaktif körüne karşı 1 dakika içinde 630 nm'de okundu.			

Hesaplanması:

Albümin (g/dL) = (A test / A std.) x Std. Kons.

3.2.4.4.Serum Malondialdehit Düzeyi Ölçümü

Serumda MDA tayini Yoshioka ve ark. (1979) bildirdiği yöntemle göre ölçüldü.

Prencip: Tiyobarbütirik asit (TBA) tepkimesinde lipit içerik, düşük pH ve TBA varlığında ısıtıldığında 535 nm'de maksimum pik oluşturan stabil kırmızı-pembe renk meydana gelir. Kırmızı-pembe renk, MDA molekülü ile iki TBA molekülünün birleşmesi sonucu oluşan kromojenden dolayıdır.

Deneyde Kullanılan Çözeltiler:

1.Triklorasetik asit (% 20): 20 g triklorasetik asit (TCAA) distile suda çözüldü ve hacim 100 mL'ye tamamlandı.

2.Tiyobarbütirik asit (% 0,67): 1,675 g tiyobarbütirik asit (TBA) distile suda çözüldü ve hacim 250 mL'ye tamamlandı.

3.Stok Standart Çözelti (20 mmol/L): 0,494 mL 1,1 3,3-tetraetoksipropan (d:0,92; % 97; MA: 220,3) 100 mL alkolde çözülerek, 20 mmol/L'lik stok standart çözelti hazırlandı.

Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması: 20 mmol/L'lık stok standart çözeltilerden 0,1 mL alınarak hacmi 100 mL'ye tamamlandı ve 20 µmol/L'lik standart çözeltiler elde edildi. Bu çözeltiler ile 10 - 5 - 2,5 - 1,25 - 0,625 µmol/L'lik dilüsyonlar hazırlanarak aşağıda açıklandığı şekilde çalışıldı. 535 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.

Deneyin Yapılışı

Test ve kör olarak işaretlenen cam deney tüpleri alındı ve test tüpüne 0,5 mL serum, kör tüpüne 0,5 mL distile su pipetlendi. Bütün tüplere 2,5 ml % 20'lik TCAA ve 1 mL TBA ilave edildi. Tüpler 90 °C'lik su banyosunda 30 dakika inkübe edildi, soğutuldu ve üzerine 4 mL n-bütanol pipetlenerek 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra n-bütanol tabakası başka bir tüpe aktarılarak 535 nm'de köre karşı testin absorbansı spektrofotometrede okundu.

Pipetleme işlemi aşağıdaki şekilde yapıldı.

	Kör	Test
Serum	-	0,5 mL
Distile su	0,5 mL	
TCAA	2,5 mL	2,5 mL
TBA	1 mL	1 mL

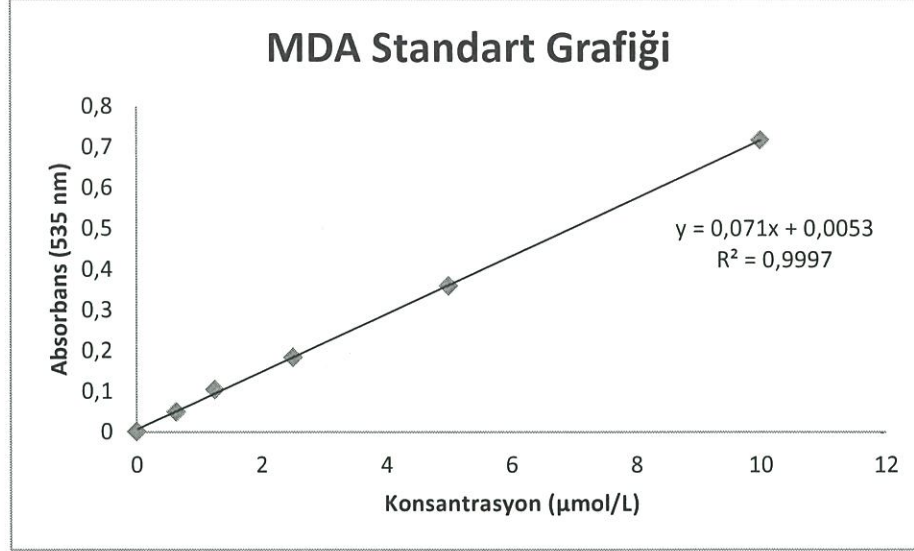
90 °C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra tüpler su altında soğutuldu.

n-Bütanol 4 mL 4 mL

3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan tabaka ayrılarak 535 nm'de köre karşı optik dansiteler okundu.

Hesaplanması:

Sonuçlar kalibrasyon eğrisinden hesaplanarak bulundu.



Şekil 2. MDA düzeyinin saptanmasında kullanılan kalibrasyon eğrisi

3.2.4.5. Tam Kanda Glutasyon Düzeyi Ölçümü

Tam kanda glutasyon (GSH) düzeyleri Beutler ve ark. (1963) bildirdikleri yöntemle tayin edildi.

Prensibi: Sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptit olan GSH nerdeyse tamamı kandaki eritrositler içinde bulunur. EDTA'lı kanın distile su ile hazırlanan hemolizinde, sülfidril (-SH) grupları taşımayan tüm proteinler çöktürülür. GSH, meydana gelen berrak sıvıda -SH gruplarının DTNB (5,5'-2-ditiobis nitrobenzoik asit) ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülür.

Deneyde Kullanılan Çözeltiler:

1.Çöktürücü çözelti: 1,67 g metafosforik asit, 0,2 g EDTA, 30 g NaCl alınarak bir miktar distile suda çözüldü ve hacim 100 mL'ye tamamlandı.

2.Fosfat çözeltisi (0.3 M Na₂HPO₄): 53,4 g Na₂HPO₄.2H₂O distile suda çözülerek hacim litreye tamamlandı.

3.Sodyum sitrat çözeltisi (% 1): 1 g sodyum sitrat alınarak hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

4.DTNB (Ellman's çözeltisi): 40 mg DTNB alındı ve % 1'lik sodyum sitrat ile hacim 100 mL'ye tamamlandı.

5.Standart GSH çözeltisi: 40 mg GSH distile suda çözüldü ve hacim 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

Kör, standart ve test olarak işaretlenen tüplerden test tüpüne, EDTA'lı kandan 200 µL, standart tüpüne standart çözeltisinden 200 µL alındı. Üzerine 1800 µL distile su (kanın hemoliz olması için) ve 3 mL çöktürücü çözelti eklendi. Kör olarak işaretlenen tüpe 2000 µL distile su üzerine 3 mL çöktürücü çözelti pipetlendi. Tüpler karıştırıldı ve buzlu suda 5 dakika bekletilip, 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Kör tüp aynen alındı, standart ve test olarak işaretlenen yeni tüplere 2'şer mL süpernatant alındı. Bütün tüplere 8'er mL fosfat çözeltisi ilave edilip karıştırıldı. 1 mL DTNB eklenerek 412 nm dalga boyunda köre karşı standart ve testin optik dansitesi okundu.

Pipetleme işlemi aşağıdaki şekilde yapıldı.

	Kör	Standart	Test
EDTA'lı kan	-	-	200 µL
Standart	-	200 µL	-
Distile su	2000 µL	1800 µL	1800 µL
Çöktürücü çözelti	3 mL	3 mL	3 mL
Buzlu suda 5 dakika bekletildi. Ardından 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve başka tüplere süpernatanttan 2 mL aktarıldı.			
Fosfat Çözeltisi	8 mL	8 mL	8 mL
Karıştırıldı			
DTNB	1 mL	1 mL	1 mL
412 nm'de tüplerin optik dansiteleri köre karşı okundu			

Hesaplanması:

Tam kan GSH konsantrasyonu mg/dL olarak aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplandı.

$GSH (mg/dL) = (Testin\ Optik\ Dansitesi / Standardın\ Optik\ Dansitesi) \times Standardın\ konsantrasyonu (40\ mg/dL).$

3.3.İstatiksel Analiz

Çalışma verilerinin değerlendirilmesinde SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. Analizlerde grupların normal dağılım gösterme durumu Kolmogorov-Smirnov testi yapılarak değerlendirildi. Gruplar normal dağılım gösterdiği için, grupların karşılaştırılmasında Independent Sample T-testi kullanıldı. Sonuçlar, ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. $P < 0,05$ ifadesi veya daha küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmada elde edilen serum haptoglobin, seruloplazmin, albümin, MDA ve tam kan GSH düzeylerine ait bulgular ve istatistiksel önemi Tablo 1 ve 2’de, bulguların grafiksel değerlendirilmesi ise sırası ile Şekil 3 ve 7’de gösterildi.

Güç doğum yapan ineklerde pozitif AFP olan haptoglobin ve seruloplazmin düzeyi normal doğum yapanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artarken ($P<0,001$), negatif AFP olan albümin düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($P<0,05$).

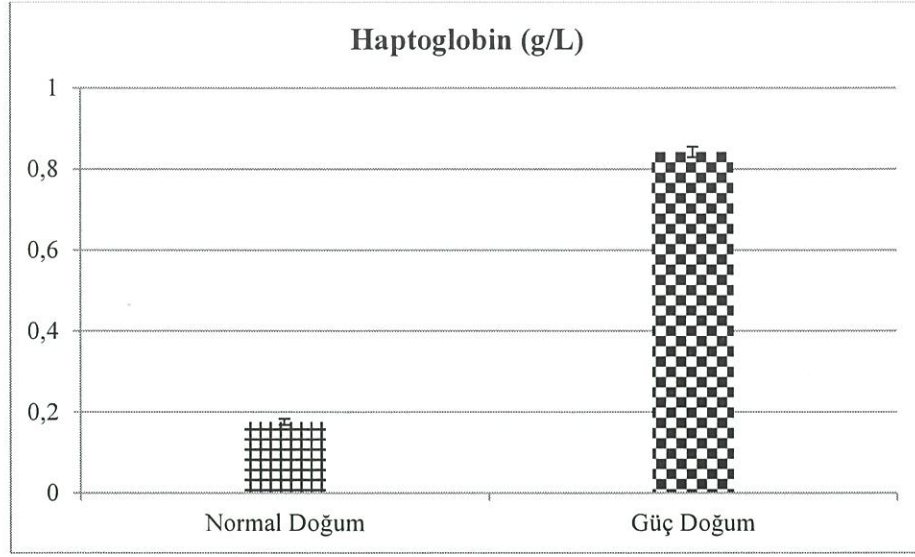
Tablo 1. Normal ve güç doğum yapan ineklerde akut faz protein düzeyleri

Parametreler	Normal Doğum	Güç Doğum	P Değeri
Haptoglobin (g/L)	0,176±0,007	0,842±0,013	P<0,001
Seruloplazmin (mg/dL)	15,68±0,83	24,14±1,02	P<0,001
Albümin (g/dL)	3,15±0,08	2,91±0,08	P<0,05

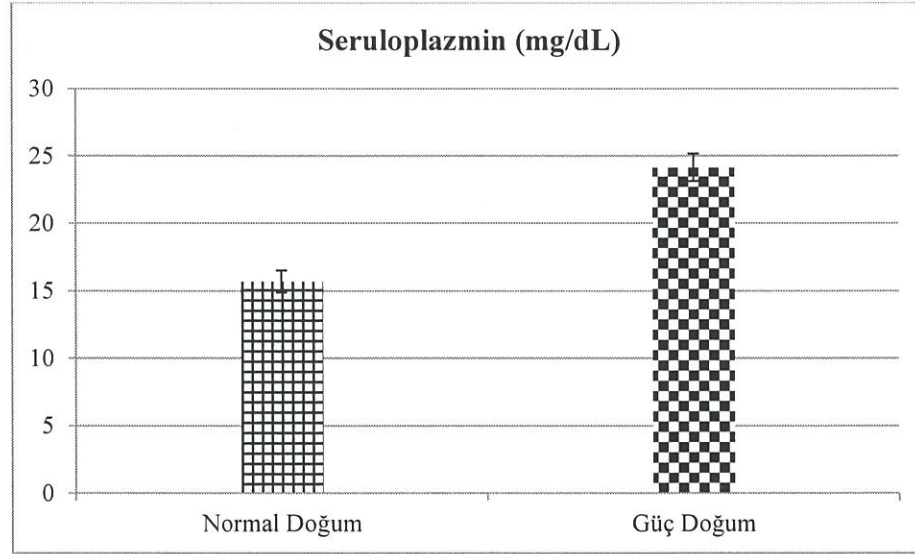
Güç doğum yapan ineklerde MDA düzeyi normal doğum yapanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artarken ($P<0,001$), GSH düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($P<0,05$).

Tablo 2. Normal ve güç doğum yapan ineklerde MDA ve GSH düzeyleri

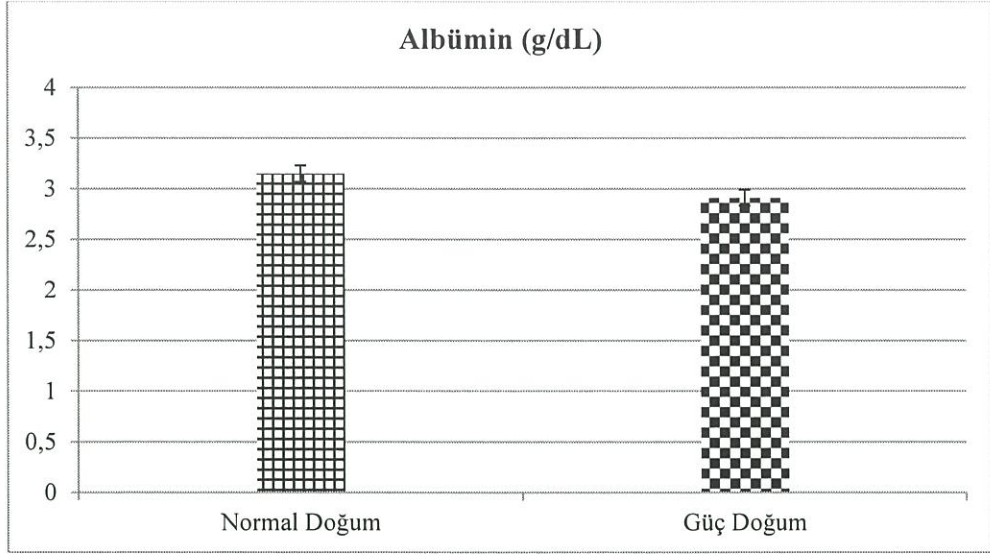
Parametreler	Normal Doğum	Güç Doğum	P Değeri
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	2,93±0,09	4,51±0,08	P<0,001
GSH (mg/dL)	73,21±1,19	64,34±2,98	P<0,05



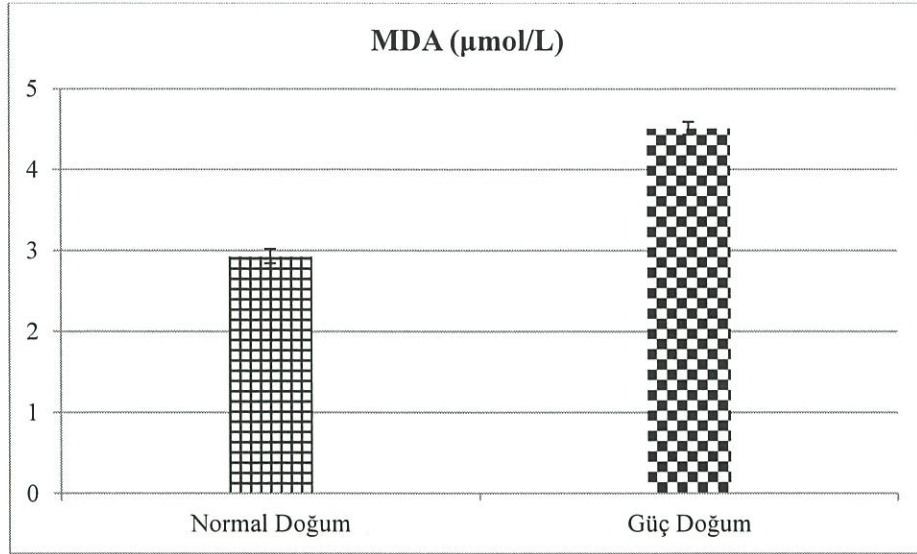
Şekil 3. Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum haptoglobin konsantrasyonunun değişimi. Gruplar arasında haptoglobin konsantrasyonu istatistiksel olarak önemli bulundu ($P < 0,001$).



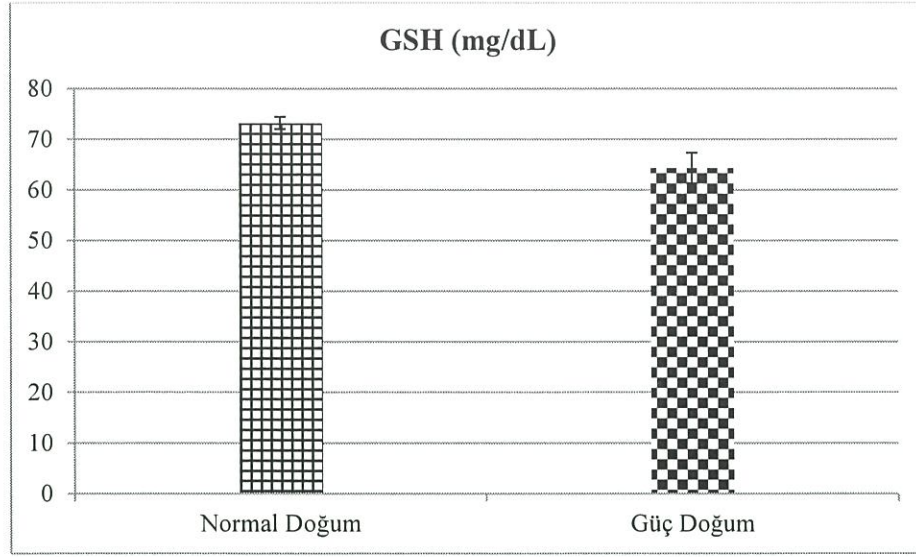
Şekil 4. Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum seruloplazmin konsantrasyonunun değişimi. Gruplar arasında seruloplazmin konsantrasyonu istatistiksel olarak önemli bulundu ($P < 0,001$).



Şekil 5. Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum albümin konsantrasyonunun değişimi. Gruplar arasında albümin konsantrasyonu istatistiksel olarak önemli bulundu ($P<0,05$).



Şekil 6. Normal ve güç doğum yapan ineklerde serum MDA konsantrasyonunun değişimi. Gruplar arasında MDA konsantrasyonu istatistiksel olarak önemli bulundu ($P<0,001$).



Şekil 7. Normal ve güç doğum yapan ineklerde tam kanda GSH konsantrasyonunun değişimi. Gruplar arasında GSH konsantrasyonu istatistiksel olarak önemli bulundu ($P<0,05$).

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Gebelik çok farklı mekanizmalar içeren karmaşık, fizyolojik bir süreç olup, hayvanlarda nöroendokrin ve nöroimmün sistem dâhil birçok mekanizmayı etkilemesi nedeniyle organizmada oluşan akut faz yanıtı bağı olarak AFP düzeylerinde artış veya azalışa neden olabilmektedir. Akut faz yanıtı, organizmada oluşan yangı, doku hasarı, enfeksiyon, neoplastik büyüme veya immünolojik bozukluklar sonucu oluşan homeostazise karşı organizmanın göstermiş olduğu nonspesifik bir reaksiyondur. Organizma tarafından oluşturulan bu nonspesifik reaksiyon sonucu karaciğerden AFP'ler sentezlenmektedir. AFP'ler yangı sırasında kanda konsantrasyonları azalanlar (prealbümin, albümin, transferrin) negatif AFP ve kanda konsantrasyonu artanlar (CRP, SAA, α 1-antitripsin, α 1-asit glikoprotein, seruloplazmin, haptoglobin, fibrinojen) pozitif AFP olarak sınıflandırılmaktadır (Heinrich ve ark.1990, Kent 1992, Alsemgeest ve ark. 1994, Gruys ve ark. 1994, Skinner ve Roberts 1994, Petersen ve ark. 2004).

Sığırlarda önemli bir AFP olan haptoglobin α ve β olmak üzere iki alt üniteden oluşur. Sağlıklı sığırların serumunda haptoglobin bulunmamakta veya çok az düzeyde (0,1 mg/mL) bulunmaktadır (Eckersall ve Conner 1988). Haptoglobinin fonksiyonları arasında, hemoglobin ile kompleks oluşturarak demir kaybının önlenmesi (Isaac 2008) ve dolaylı olarak bakteriyostatik etki göstermesi sayılabilir (Bullen 1981). Birçok türde çalışılan önemli bir AFP olan haptoglobin; mastitis, pnömoni, enteritis, peritonitis, endokarditis, endometritis, viral veya bakteriyel solunum sistemi enfeksiyonu gibi doğal ve deneysel birçok hastalıkta konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Eckersall ve Bell 2010, Sharifiyazdia ve ark. 2012, Merhan ve ark. 2017a, Merhan ve ark. 2017b).

Yangısal durumlara ek olarak, AFP'ler gebelik gibi normal fizyolojik durumlarda da salınır. Georgieva ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada doğumdan önceki haptoglobin konsantrasyonları normal doğum yapan koyunlarda $0,193\pm 0,038$ g/L iken güç doğum yapan koyunlarda ise $0,558\pm 0,119$ g/L olarak, Scott ve ark. (1992) yaptıkları başka bir çalışmada normal doğum yapan koyunlarda haptoglobin konsantrasyonunun $0,25\pm 0,27$ g/L ve güç doğum yapan koyunlarda ise $0,82\pm 0,73$ g/L olarak bildirmişlerdir. İlave olarak Aziz ve Taha (1997) koyunlarda yaptıkları

başka bir çalışmada haptoglobin konsantrasyonları normal doğum yapan koyunlarda $0,266\pm 0,027$ g/L iken güç doğum yapan koyunlarda ise $0,434\pm 0,195$ g/L tespit edilmiştir.

Gebe ineklerde serum haptoglobin konsantrasyonu, muhtemelen kortizol ve steroid olmayan yağ asitleri tarafından ekspresyonunun düzenlenmesi nedeniyle özellikle de doğum yaklaşınca artmaktadır (Uchida ve ark. 1993). Nazifi ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada, doğumu yaklaşan kurudaki ineklerde haptoglobin konsantrasyonunun $0,300\pm 0,090$ g/L, gebe ineklerde $0,220\pm 0,030$ g/L ve gebe olmayanlarda ise $0,080\pm 0,060$ g/L olduğunu bildirmişlerdir.

Bufalolarda yapılan bir çalışmada haptoglobin konsantrasyonunun doğumda ve doğumdan birkaç gün sonra hafif bir artış olduğunu ve doğum sırasında distorsiyon gösteren bufalolarda doğumdan 24 ve 48 saat sonra haptoglobin konsantrasyonlarında önemli derecede bir artış tespit etmişlerdir (Ghuman ve ark. 2009).

Seruloplazmin tek bir polipeptit zincirinden oluşan α -2 globulindir. Sığırlarda haptoglobin ve SAA'ya göre daha az kullanılan seruloplazmin enfeksiyon varlığının bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (Fagliari ve ark. 1998, Bozukluhan ve ark. 2016). Seruloplazmin bakırla birlikte çeşitli enzim (Sitokrom C oksidaz ve Cu-Zn süperoksit dismutaz) aktivitelerinin artmasını ve savunma sistemi hücreleri üzerine etki ederek bu hücrelerin fagositoz ve antimikrobiyel gücünün daha yüksek olmasını sağlamaktadır. Ayrıca oksijen radikallerinin etkilerini azaltarak hücreleri oksidatif zararlara karşı korumaktadır (Cerone ve ark. 2000). İneklerde özellikle meme enfeksiyonunun belirlenmesinde değerli bilgiler verdiği bildirilmektedir (Chassagne ve ark. 1998; Szczubiał ve ark. 2012). Postpartum dönemde (3-5 hafta) klinik olarak sağlıklı olan ineklerde serum seruloplazmin düzeyinin $22,1\pm 5,89$ mg/dL olduğu bildirilmiştir (Hussein ve Staufenbiel 2012).

Sığır (Sheldon ve ark. 2001) ve koyunlarda (Sheldon ve ark. 2003) yapılan çalışmalarda seruloplazmin konsantrasyonunun doğum esnasında fiziksel stres ve travmaya bağlı olarak önemli düzeyde arttığı ve bu artışın uterus involusyonu ve bakteriyel kontaminasyondan ileri gelebileceği bildirilmektedir. Çalışmamızda da

güç doğum yapan ineklerde normal doğum yapan ineklere göre haptogloblin ve seruloplazmin konsantrasyonunda artış tespit edilmiş olup muhtemelen bu artışın sebebi doğum esnasında oluşan fiziksel stres ve travma sonucu artabileceğini bildiren çalışmalara paralel (Regassa ve Noakes 1999, Sheldon ve ark. 2003) ve doğumdaki fizyolojik ve metabolik değişikliklere bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Negatif bir AFP olan albüminin, akut faz yanıt sırasında konsantrasyonunun azaldığı bildirilmiştir (Roussel ve ark. 1997, Gruys ve ark. 2005). Albüminin serum seviyesi açlık, karaciğer bozukluğu, bağırsak malabsorbsiyonları durumunda etkilenmektedir (Roussel ve ark. 1997, Bozukluhan ve ark. 2016). Irmak ve ark. (1998) koyunlarda yaptıkları bir çalışmada, gebeliğin son 15. ve 5. günlerinde azalan albümin değerlerinin doğumdan sonraki 10. günde arttığını tespit etmişlerdir. Bu dönemde şekillenen hipoalbümineminin nedeni olarak albümin sentezinin azalması veya tüketiminin artması olabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da albümin düzeyi güç doğum yapanlarda normal doğum yapan gruba oranla önemli düzeyde azalmış olup, bu durumun gelişen akut faz yanıtına bağlı olarak ve/veya hayvanda gelişen albümin tüketiminin artmasından ileri gelebileceği düşünülmektedir.

Normal koşullarda, organizmada oksidan ve antioksidanlar denge halindedir. Ancak yangı, enfeksiyon ve stres gibi durumlarda bu denge oksidanlar lehine bozularak hücre ya da dokularda hasara neden olabilen oksidatif stres oluşturmaktadır. Oksidatif streste konsantrasyonu artan serbest radikaller; lipit, karbonhidrat, protein ve nükleik asit gibi molekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olurlar. Organizmada serbest radikallerin oluşturduğu hasarı ve/veya lipit peroksidasyonunu önlemek amacıyla görev yapan savunma sistemi antioksidan savunma sistemi olarak adlandırılmaktadır.

Reaktif oksijen metabolitlerinin üretimi ve güvenli atılımı arasındaki dengesizlik, süt ineklerinde doğumla ilgili bozukluklara neden olabilir (Miller ve ark. 1993). Oksidatif stres, hayvanlarda sağlıklı gebelikle ilgili yapılan birkaç çalışmada bildirilmiştir. Castillo ve ark. (2005) geç laktasyon dönemi ve buzağılama öncesi 10. hafta (kuru dönem) ile buzağılama sonrası 2 haftalık periyotlarda (erken laktasyon) sağlıklı süt sığırlarında yaptıkları bir çalışmada MDA düzeyleri gruplar arası farklılık

göstermezken, ilk haftada total antioksidan kapasitenin pik yaptığı ve daha sonra azaldığını bildirmişlerdir.

Gebelikte artan metabolik aktivite, negatif enerji dengesi ve keton cisimciklerinin oluşumu, gebelik sırasında antioksidan rezervinin azalması ve gebe hayvanların laktasyona fizyolojik adaptasyonu nedeniyle artan serbest radikal üretimine neden olur (Sahoo ve ark. 2009). Süt ineklerinde, gebeliğin son dönemleri ile erken laktasyon dönemlerinde enerji ve besin madde ihtiyaçlarında önemli artışlar olmaktadır. Buna karşın, bu dönemlerde yem tüketimindeki ciddi azalmalara bağlı olarak ihtiyaçlar karşılanamamakta, sonuçta negatif enerji dengesi oluşmaktadır (Büyüköğlü ve Aslan 2018).

Bu çalışmada güç doğum yapan ineklerde MDA düzeylerinin normal fizyolojik düzeylerden yüksek olduğu, GSH düzeylerinin ise güç doğum yapan ineklerde azaldığı tespit edildi. Muhtemelen nedeni artan metabolik aktivite, negatif enerji dengesi ve/veya doğumda oluşan strese bağlı olarak artan serbest radikal konsantrasyonunun neden olduğu lipid peroksidasyonu olabilir.

Sonuç olarak; yoğun stres altında olan ve müdahale ile doğumu gerçekleşmiş ineklerde, akut faz yanıtın ve oksidatif stresin arttığı görülmüştür. Özellikle güç doğumlarda müdahale yapılan ineklerde enfeksiyon oluşumunu engellemek amacıyla yapılacak uygulamalara ek olarak meydana gelen oksidatif strese karşı antioksidan uygulamaların da faydalı olabileceği kanısına varıldı. Bununla birlikte ineklerde güç doğumun önceden tahmin edilmesi içinde ilgili faktörlerin ölçümünün fayda sağlayabileceği ile ilgili yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir.

6.KAYNAKLAR

Akkuş İ: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Konya, 1995.

Alsemgeest SPM, Kalsbeek HC, Wensing T, Koeman JP, van Ederen AM, Gruys E: Concentration of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle, *Vet Q*, 16(1): 21-23, 1994.

Anderson P: Minimizing calving difficulty in beef cattle. Proceedings: Minnesota Beef Cattle Improvement, MN, USA. Association Annual Beef Cattle Conference, 21: 1-15, 2012.

Apaydın AM: Güç Doğum. Alaçam E, ed. Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. 8. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara p, 205-222, 2015.

Aziz DM, Taha MB: Effect of dystocia on serum haptoglobin in Awassi ewes, *Theriogenology*, 48: 559-562, 1997.

Beagley JC, Whitman KJ, Babtiste KE, Scherzer J: Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *J Vet Inter Med*, 24: 261-268, 2010.

Berger PJ, Cubas AC, Koehler KJ, Healey MH: Factors affecting dystocia and early calf mortality in Angus cows and heifers. *J Anim Sci*, 70: 1775, 1992.

Beutler E, Duron O, Kelly BM: Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61: 882-888, 1963.

Bochsler PN, Slauson DO: Inflammation and repair of tissue. In: Bochler PN, Slauson DO (eds.): *Mechanism of Disease. A Textbook of Comparative General Pathology*. 3 eds. Mosby, St.Louis, 140-245, 2002.

Bozukluhan K, Merhan O, Büyük F, Çelebi Ö, Gökçe G: Determination of some acute phase proteins level in cattle with brucellosis. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 63: 13-16, 2016.

Bullen JJ: The significance of iron in infection. *Rev Infect Dis*, 3: 1127-1138, 1981.

Büyükoğlu T, Aslan N: Oksidatif stres ve geçiş dönemi süt sığırlarında oksidatif stresin etkileri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 9(2): 33-41, 2018.

Castillo C, Hernandez J, Bravo A, Lopez-Alonso M, Pereira V, Benedito JL: Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet J*, 169(2): 286-292, 2005.

Cecilliani F, Ceron JJ, Eckersall PD, Sauerwein H: Acute phase proteins in ruminants. *J Proteomics*, 75: 4207-4231, 2012.

Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S: Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol*, 34: 85-99, 2005.

Cerone SI, Sansinanea AS, Streitenberger SA, Garcia MC, Auza NJ: Cytochrome c oxidase, Cu, Zn-superoxide dismutase, and ceruloplasmin activities in copper-deficient bovines. *Biol Trace Elem Res*, 73: 269-278, 2000.

Chassagne M, Barnouin J, Chacornac JP: Biological predictors for early clinical mastitis occurrence in Holstein cows under field conditions in France. *Prev Vet Med*, 35: 29-38, 1998.

Colombo JP, Richterich R: Zur bestimmung des caeruloplasmin im plasma (on the determination of ceruloplasmin in plasma). *Schweiz Med Wochenschr*, 94: 715-720, 1964.

Don BR, Kaysen G: Serum albumin: Relationship to inflammation and nutrition. *Seminars in Dialysis*, 17: 432-437, 2004.

Drackley JK: Biology of dairy cows during transition period: the final frontier? *J Dairy Sci*, 82: 2259-2273, 1999.

Eckersall PD, Bell R: Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet J*, 185: 23-27, 2010.

Eckersall PD, Conner JG: Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun*, 12, 169-178, 1988.

Eckersall PD: Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Rev Med Vet*, 151: 577-584, 2000.

Fagliari JJ, McClenahan D, Evanson OA, Weiss DJ: Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. *Am J Vet Res*, 59: 1234-1237, 1998.

Fagliari JJ, Weiss DJ, McClenanhan D, Evanson OA: Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 55: 4, 2003.

Fournier T, Medjoubi N, Porquet D: Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochimica Acta*, 1482: 306-311, 2000.

Gabay C, Kushner I: Acute phase proteins and other systemic responses to inflammations. *N Engl J Med*, 340: 448-454, 1999.

Georgieva TM, Dishlyanova E, Jotov S: Plasma haptoglobin concentrations after normal parturition and caesarean operation in ewes with dystocia (preliminary study). *Revue Med Vet*, 162: 607-612, 2011.

Ghuman CEP, Kumar A, Honparkhe M: A preliminary study about haptoglobin plasma concentrations in buffaloes following spontaneous or assisted delivery. *Buff Bull*, 28: 127-130, 2009.

Godson DL, Campos M, Attah-Poku SK, Redmond MJ, Cordeiro DM, Sethi MS, Harland RJ, Babiuk LA: Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet Immunol Immunopathol*, 51: 277-302, 1996.

Grummer RR: Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci*, 73: 2820-2833, 1995.

Gruys E, Toussaint MJM, Niewald TA: Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci*, 11: 1045-1056, 2005.

Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM: Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review *Vet Bull*, 64(11): 1009-1018, 1994.

Halliwell B: Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidants intake in humans. *Free Radic Res*, 25(1): 57-74, 1996.

Heinrich PC, Castell JV, Andus T: Interleukin-6 and the acute phase response, *Biochem J*, 265: 621-636, 1990.

Honparkhe M, Kumar A, Gandotra VK: Dystocia due to accumulation of fluid in peritoneal cavity and intestines of fetus in a cross bred cow. *Indian J Anim Reprod*, 24: 83-84, 2003.

Hussein HA, Staufenbiel R: Variations in copper concentration and ceruloplasmin activity of dairy cows in relation to lactation stages with regard to ceruloplasmin to copper ratios. *Biol Trace Elem Res*, 146: 47-52, 2012.

Irmak K, Şen İ, Ok M, Civelek T, Güzelbektaş H, Akay N: Koyunlarda doğum öncesi ve sonrası metabolik profildeki değişiklikler. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 4(1-2): 1-9, 1998.

Isaac KQ: Haptoglobin, inflammation and disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 102: 735-742, 2008.

Janeway CA, Travers P, Walport M, Schlomschik M: *Immunobiology 5*. (ed.) Taylor and Francis, London, p. 732, 2001.

Johansen JM, Berger PJ: Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. *J Dairy Sci*, 86: 3745-3755, 2003.

Kent JE: Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis, *Br Vet J*, 148(4): 279-282, 1992.

Lovstad RA: A kinetic study on the phenothiazine dependent oxidation of NADH by bovine ceruloplasmin. *Biometals*, 19: 1-5, 2006.

Mackiewicz A: Acute phase proteins and transformed cells. *Int Rev Cytol*, 170: 225-300, 1997.

Martinez-Subiele S, Tecles F, Ceron JJ: Comparison of two automated spectrophotometric methods for ceruloplasmin measurement in pigs. *Res Vet Sci*, 83: 12-19, 2007.

Masella R, Benedetto RD, Vari R, Filesi C, Giovannini C: Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*, 16(10): 577-586, 2005.

McClintock SE: A genetic evaluation of dystocia in Australian Holstein-Friesian cattle. PhD, University of Melbourne, 2004.

Mekonnen M, Moges N: Maternal dystocia in cows: a review. *EJBS*, 8(3): 91-100, 2016.

Merhan O, Bozukluhan K, Çelebi Ö, Öğün M, Atakişi E, Büyük F: Levels of acute phase protein and some biochemical parameter in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *J Fac Vet Med Univ Erciyes*, 14: 101-105, 2017a.

Merhan O, Bozukluhan K, Kiziltepe S, Gokce HI: Investigation of levels of haptoglobin, serum amyloid A, ceruloplasmin and albumin in cattle with foot-and-mouth disease. *Isr J Vet Med*, 72: 14-17, 2017b.

Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC, Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J Dairy Sci*, 76(9): 2812-2823, (1993).

Morimatsu M, Syuto B, Shimada N, Fujinaga T, Yamamoto S, Saito M, Naiki M: Isolation and characterisation of bovine haptoglobin from acute phase sera. *J Biol Chem*, 266: 11833-11837, 1991.

Murata H, Shimada N, Yoshioka M: Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet J*, 168: 28-40, 2004.

Nakazawa H, Genka C, Fujishima M: Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol*, 46(1): 15-32, 1996.

Nazifi S, Rezakhani A, Koohimoghadam M, Anzarilari M, Esmailnezhad Z: Evaluation of serum haptoglobin in clinically healthy cattle and cattle with inflammatory diseases in Shiraz, a tropical area in Southern Iran. *Bulg J Vet Med*, 11: 95-101, 2008.

Niewold TA, Toussaint MJM, Gruys E: Monitoring health by acute phase proteins. In: *Proceedings of the Fourth European Colloquium on Acute Phase Proteins*. Segovia, Spain, 57-67, 2003.

Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW: *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8th (ed.) London: Saunders. Elsevier, p. 205-297, 2001.

Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PMH: Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res*, 35: 163-187, 2004.

Purohit GN, Barolia Y, Shekhar C, Kumar P: Maternal dystocia in cows and buffaloes: a review. *Open J Anim Sci*, 1(2): 41-53, 2011.

Regassa F, Noakes DE: Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. *Vet Rec*, 144(18): 502-506, 1999.

Rio DD, Stewart AJ, Pellegrini NA: A review of recent studies on malondialdehyde as a toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Met Cardiovasc Dis*, 15(4): 316-328, 2005.

Roberts SJ: *Veterinary Obstetrics and Genital disease*. 2nd (ed.) New Delhi: CBS Publishers and Distributors, p. 227-299, 2004.

Roussel AJ, Whitney MS, Cole D: Interpreting a bovine serum chemistry profile: Part: 1. *Vet Med*, 92: 551-558, 1997.

Sahoo SS, Parta RC, Behera PC, Swarup D: Oxidative stress indices in the erythrocytes from lactating cows after treatment for subclinical ketosis with antioxidant incorporated in the therapeutic regime. *Vet Res Commun*, 33(3): 281-290, 2009.

Scott PR, Murray LD, Penny CD: A preliminary study of serum haptoglobin concentration as a prognostic indicator of ovine dystocia cases. *Br Vet J*, 148(4): 351-355, 1992.

Sen S, Chakraborty R: The Role of Antioxidants in Human Health. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy*. Am Chem Soc, Chapter, 1: 1-37, 2011.

Sezer K, Keskin M: Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 28(1): 49-56, 2014.

Sharifiyazdia H, Nazifi S, Nikseresht K, Shahriari R: Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin in dairy cows naturally infected with brucellosis. *J Bacteriol Parasitol*, 3: 1-4, 2012.

Sheldon IM, Noakes DE, Bayliss M, Dobson H: The effect of oestradiol on postpartum uterine involution in sheep. *Anim Reprod Sci*, 78: 57-70, 2003.

Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft A, Dobson H: Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet Rec*, 148: 172-175, 2001.

Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Dobson H: Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *Vet Rec*, 152: 531-534, 2002.

Skinner JG: International standardization of acute phase proteins. *Vet Clin Pathol*, 30: 2-7, 2001.

Skinner JG, Brown RA, Roberts L: Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet Rec*, 128: 147-149, 1991.

Skinner JG, Roberts L: Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. *Vet Rec*, 134: 33-36, 1994.

Szczubiał M, Dąbrowski R, Kankofer M, Bochniarz M, Albera E: Concentration of serum amyloid A and activity of ceruloplasmin in milk from cows with clinical and subclinical mastitis. *Bull Vet Inst Pulawy*, 52: 391-395, 2008

Szczubiał M, Dąbrowski R, Kankofer M, Bochniarz M, Komar M: Concentration of serum amyloid A and ceruloplasmin activity in milk from cows with subclinical mastitis caused by different pathogens. *Pol J Vet Sci*, 15: 291-296, 2012.

Tabakoğlu E, Durgut R: Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. AVKAE J, 3: 69-75, 2013.

Tothova C, Nagy O, Kovac G: Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review. Vet Med, 59: 163-180, 2014.

Uchida E, Katoh N, Takahashi K: Appearance of haptoglobin in serum from cows at parturition. J Vet Med Sci, 55: 893-894, 1993.

Wagener FA, Eggernt A, Boerman OC, Oyen WJ, Verhofstad A, Abraham NG, Adema G, van Kooyk Y, de Witte T, Figdor CG: Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase. Blood, 98: 1802-1811, 2002.

Whicher T, Bienvenu J, Price CP: Molecular biology, measurement and clinical utility of the acute phase proteins. Pure&Appl. Chem, 63(8): 1111–1116, 1991.

Yang FM, Haile DJ, Berger FG, Herbert DC, Van Beveren E, Ghio AJ: Haptoglobin reduces lung injury associated with exposure to blood. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 284: L402-L409, 2003.

Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M: Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol, 135: 372-376, 1979.

7.ÖZGEÇMİŞ

Emrah BAYYİT, 1991 yılında Kars'a bağlı Arpaçay ilçesinde doğdu. İlköğretimi Kars Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu, lise öğrenimini ise Kars Cumhuriyet (YDA) Lisesi'nde tamamlayıp 2008 yılında mezun olduktan sonra Erzurum Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2014 yılında Kafkas Üniversitesi'nde pedagojik formasyon eğitimini tamamladı. 2016 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda lisansüstü eğitimine başladı. Özel Kars Orhangazi Temel Lisesi'nde Biyoloji Öğretmeni olarak görevine devam etmektedir. Evlidir.