

Leptospirozisli Sığırlarda Bakır, Çinko ve Manganez Düzeyleri

Nilgün PAKSOY*

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 09.06.2015

Kabul Tarihi: 17.07.2015

Özet: Bu çalışma leptospirozisli sığırların kan serumunda bakır, çinko ve manganez düzeylerindeki değişiklikleri belirlemek amacıyla yapıldı. Çalışmanın materyalini Kars ili ve çevresinden sağlanan, klinik ve karanlık saha mikroskopuna göre leptospirozis tanısı konulan 6 ay-1,5 yaşında, 4 dişi, 6 erkek 10 sığır oluşturdu. Kontrol grubu olarak ise yine aynı yaş aralıklarında 5 dişi, 5 erkek sığır kullanıldı. Hasta grupta kan serumu bakır, çinko ve manganez düzeyleri sırası ile $0,7870 \pm 0,28694$ mg/L, $1,7020 \pm 0,51294$ mg/L, $0,3540 \pm 0,05582$ mg/L, kontrol grubunda ise sırası ile $0,01852 \pm 0,05941$ mg/L, $2,9616 \pm 0,76576$ mg/L, $6,8630 \pm 1,91527$ mg/L olarak bulundu. Hasta grubun bakır düzeyleri kontrol gruba göre önemli derecede yüksek iken ($p < 0,001$), çinko ($p < 0,001$) ve manganez ($p < 0,001$) düzeyleri önemli derecede düşük bulundu. Leptospirozisli sığırlarda bakırın önemli derecede yükselmiş olmasının hastalığa karşı artan immün yanıtla bağlı olabileceği düşünülürken, çinko ve manganez düzeylerindeki önemli azalmaların sebebinin immün yanıtta kullanılmaları ve enfeksiyon etkenlerinin virulensleri için tüketilmeleri olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Leptospirozis, sığır, bakır, çinko, manganez*

Levels of Copper, Zinc and Manganese in Cattle with Leptospirosis

Abstract: This study was aimed at determining the alterations in the blood serum levels of copper, zinc and manganese in cattle infected with leptospirosis. Ten cattle aged from 6 months to 1.5 years, 4 of which were female and 6 of which were male, and that were raised in the Kars province and its vicinity and were diagnosed with leptospirosis on the basis of clinical and dark-field microscopic examination, constituted the material of the study. Five female and five male cattle, belonging to the same age group, were maintained for control purposes. The blood serum levels of copper, zinc and manganese were determined as 0.7870 ± 0.28694 mg/L, 1.7020 ± 0.51294 mg/L, and 0.3540 ± 0.05582 mg/L, respectively, in the infected group, and as 0.01852 ± 0.05941 mg/L, 2.9616 ± 0.76576 mg/L, and 6.8630 ± 1.91527 mg/L, respectively, in the control group. In the infected group, the copper levels were significantly higher ($p < 0.001$), and the zinc ($p < 0.001$) and manganese ($p < 0.001$) levels were significantly lower, in comparison to those of the control group. In the cattle infected with leptospirosis, the significantly elevated copper levels were attributed to the increased immune response to the infection, whereas the significantly reduced zinc and manganese levels were attributed to the use of these elements in the immune response and their consumption for the virulence of the infectious agent.

Keywords: *Leptospirosis, cattle, copper, zinc, manganese*

Giriş

Leptospirozis, zoonoz bir hastalıktır ve bütün evcil hayvanlarda ve insanlarda görülür. *Leptospira* cinsi spiroketlerin sebep olduğu hastalık yüksek ateş, hemoglobinemi, hemoglobinuri, ikterus, septisemi, anemi, abort, agalaksi ve mastitis gibi semptomlarla seyrederek (Lowanitchapat ve ark., 2010). Çöller dışında hem endüstriyel hem de gelişmekte olan tüm ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. Hastalık enfekte hayvanların idrarı ile veya kontamine su ile direkt temas sonucu bulaşır. Etken vücuda girdiğinde konakçının hedef organlarına ulaşır ve proksimal renal tubul gibi bağışıklık sisteminin çok daha az etkili olduğu bölgelerde çoğalır (Atakişi ve ark., 2014). Canlıların varlığını sürdürebilmeleri için iz elementleri yeterli düzeyde almaları gerekmektedir. İz elementler, canlı organizmada düşük miktarlarda bulunmalarına rağmen birçok enzim aktivitesi, hücre ozmotik basıncının düzenlenmesi, kollajen oluşumu, doku sentezi, hormon üretimi, oksijenin taşınması, enerji üretimi ve büyüme gibi birçok önemli fizyolojik olayın gerçekleşmesi için

gereklidirler (Eren ve ark., 2011). Söz konusu iz elementlerin en önemlilerinden biri bakırdır (Cu) (Çimtay ve Ölçülü, 2000). Hücresel solunum, kalp fonksiyonları, doku pigmentasyonu, bağ dokunun gelişimi, merkezi sinir sistemi fonksiyonları, keratinizasyon ve hemoglobin sentezinde önemli görevler üstlenir. Ayrıca, organizma için fizyolojik öneme sahip sitokromoksidaz, tirozinaz, askorbik asit oksidaz, süperoksidad, ürikaz ve seruloplazmin gibi birçok enzimin yapısına girer ve bu enzimlerin fonksiyonel aktiviteleri bakıra bağlıdır (Kelly, 1974; Dokey, 1983; Hays ve Swenson, 1984; Çimtay ve Ölçülü, 2000; Paksoy ve ark., 2013).

Çinko (Zn), bu iz elementlerden biri olup organizma için oldukça önemlidir. Karbonik anhidraz, alkalen fosfataz, RNA ve DNA polimeraz, alkol dehidrojenaz gibi birçok önemli metalloenzimin yapısında ve fonksiyonunda görev alır (Burtis ve Ashwood, 1999; Erdoğan ve ark., 2003; Paksoy ve ark., 2013). Manganez (Mn) genç hayvanlarda kemik dokusu organik matriksinin olgunlaşması ve kemik yapısının gelişimi; için

önemli bir iz elementtir. Ayrıca birçok enzimin (hidrazlar, kinazlar, dekarboksilazlar ve transferazlar) aktivatörüdür ve metalloenzimlerin (arginaz, piruvatkarboksilaz ve mangan süperoksit dismutaz) bir öğesidir. Lipid ve karbonhidrat metabolizmasına, hücre fonksiyonlarına ve hücre zarının yapımına katılır. Ayrıca bağışıklık sistemi ve beyin fonksiyonlarını etkiler (McDowell, 1992; Harris ve ark., 1994; Artington, 2002; Akın, 2004; Paksoy ve ark., 2013). Bu çalışma, Leptospirozis tanısı konulan sığırlarda bakır, çinko ve mangan düzeylerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Hayvan Materyali ve Numunelerin Toplanması: Çalışmanın materyalini Kars ili ve çevresinden sağlanan, klinik ve karanlık saha mikroskopuna göre leptospirozis tanısı konulan 6 ay-1,5 yaşında, 4 dişi, 6 erkek 10 sığır oluşturdu. Kontrol grubu olarak ise yine aynı yaş aralıklarında 5 dişi, 5 erkek sığır kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen bütün hayvanların V. jugularislerinden 5 ml kan alınarak 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Tablo 1. Klinik olarak sağlıklı (kontrol grubu) ve leptospirozisli sığırların (hasta grup) serum Cu, Zn ve Mn düzeyleri.

| | Kontrol Grup | | | Leptospirozisli Grup | | | Önem |
|------------------|--------------|--------|---------|----------------------|--------|---------|----------|
| | n | x | Sx | n | x | Sx | |
| Cu (mg/L) | 10 | 0,1852 | 0,05941 | 10 | 0,7870 | 0,28694 | P< 0,001 |
| Zn (mg/L) | 10 | 2,9616 | 0,76576 | 10 | 1,7020 | 0,51294 | P< 0,001 |
| Mn (mg/L) | 10 | 6,8630 | 1,91527 | 10 | 0,3540 | 0,05582 | P< 0,001 |

Tartışma ve Sonuç

Leptospirozis ateş, böbrek ve karaciğer yetmezliği ile pulmoner belirtiler ve reproduktif başarısızlıkla karakterize, insan ve başlıca köpek, sığır, domuz gibi evcil hayvanların sistemik bir hastalığıdır (Adler ve Moctezuma, 2010). Klinik belirtiler hayvan türleri arasında çeşitlilik göstermekle birlikte sığırlarda genellikle yüksek ateş (40-41,5 °C), iştahsızlık, durgunluk, hemoglobinuri ve ikterus ile karakterizedir (Rodostits ve ark., 1994; Erdoğan ve ark., 2008; Batmaz, 2010) Bu çalışmada leptospirozisli sığırlarda tespit edilen klinik bulgular diğer çalışmalardakiyle benzerlik göstermektedir. Çalışmadaki klinik belirtiler, mikrobiyolojik olarak idrarda spiroketlerin karanlık saha taramasıyla (Quin ve ark., 1994) desteklendi.

Bakır tüm canlılar için hayati öneme sahip bir iz elementtir. Çok önemli metabolik fonksiyonları olan metalloenzim ve çeşitli proteinlerin yapısına katılmak suretiyle büyüme, gelişmenin düzeni ve

Biyokimyasal Analizler: Kan serumundaki Cu, Zn ve Mn değerleri Perkin Elmer AAS-800 (HGA Grafit donanımlı, USA) marka atomik absorpsiyon cihazında AOAC 2000 ile 999.10 yöntemi ile ölçüldü (Perkin-Elmer Corporation, 1996).

İstatistiksel Analiz: Elde edilen sonuçlar SPSS 20.0 istatistik programında t-testi yöntemi kullanılarak analiz edilip değerlerin tanımlayıcı istatistikleri yapıldı.

Bulgular

Klinik Bulgular: Yüksek vücut sıcaklığına sahip leptospirozisli hayvanlarda anoreksi, eksitasyon, hemoglobinüri, kojuktiva ve mukoza membranlarında ikterus vardı. Klinik belirtiler leptospirozis için belirleyiciydi.

Mikrobiyolojik Bulgular: Klinik olarak şüpheli olguların idrarları karanlık saha mikroskopisi ile incelenerek spiroketlerin varlığı tespit edildi.

Biyokimyasal Bulgular: Leptospirozisli ve sağlıklı hayvanlardaki serum Cu, Zn ve Mn düzeyleri ve istatistik analiz sonuçları Tablo 1'de sunuldu.

pek çok doku ve organın devamlılığı için şarttır. Bakır yetersizliğinden en çok etkilenen organlar kan ve hematopoitik sistem, kardiyovasküler sistem, bağ doku ve kemik doku, sinir sistemi ve bağışıklık sistemidir. Bakırın bağışıklık sisteminin gelişimi ve devamı için önemli rolü iyi bilinmesine rağmen bu etkinin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Bağışıklı sistemi enfeksiyonlara karşı savaşında uyarır, yıkımlanmış dokuları onarır ve iyileşmeyi teşvik eder (Radostits ve ark., 1994). Mohammadi ve Sakhaee'nin (2015) sığırlarda leptospirozisin oluşumunda bakır yetersizliğinin etkisini araştırdıkları çalışmalarında bakır yetersizliği olan sığırların bakır düzeyleri normal olan hayvanlara göre enfeksiyon riskinin oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Yine son yıllarda yapılan çalışmalarda, normal immun fonksiyon için yeterli derecede bakır alınmasının gerekli olduğu tespit edildi. Farklı hastalık türlerinde humoral immun yanıt ve plazma bakır düzeyleri arasında

pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (Wellinghausen ve ark., 1999; Akış ve Dede, 2000). Bakır bir akut faz proteini olan seruloplazminin önemli bir parçası olduğundan dolayı, inflamasyon olayları süresince, seruloplazmin düzeylerinin artmasının bir sonucu olarak bakır düzeylerinin arttığını gösteren çalışmaların varlığı (Healy ve Tipton, 2007, Akış ve Dede, 2009) Bu çalışmada da leptospirozisli sığırlarda sağlıklı sığırlara göre bakır düzeyinin önemli derecede ($P < 0,001$) yüksek bulunmasının immun sistemin önemli bir parçası olan bakırın akut bir yanıt olarak seruloplazmin artışından kaynaklanmış olabileceğini düşündürdü.

Çinkonun 300 den fazla protein molekülünün içeriğinde yer aldığını bildirilmektedir. Çinko hem moleküllerin bir parçası olarak hem de aktivatörü olarak enzimlerle ilişkilidir. Pek çok önemli görevinin yanı sıra çinko immun sistemin bütünlüğü için esansiyeldir ve spesifik antikorların oluşumunda rol aldığından immunkompeten, immunregülasyon ve mikroorganizmalara karşı direnç oluşumunda önem taşımaktadır. (Crea ve ark., 1990, Bodgen ve ark., 1990; Uyanık, 2000). Akış ve Dede'nin babesiosisli koyunlarda yapmış oldukları çalışmada Zn seviyesi önemli oranda düşmüştür ve buradan yola çıkıldığında viral, paraziter ya da enfeksiyon hastalıklarında çinkonun akut faz cevap olarak immun yanıtın oluşumu esnasında harcanması kuvvetli bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır (Akış ve Dede, 2009). Yaptığımız çalışmada hasta hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre serum Zn seviyesinin düşük çıkmasının ($P < 0,001$) benzer nedenden kaynaklanmış olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda manganezin (Mn) leptospirozisli sığırlarda önemli derecede düşük olduğu görüldü ($P < 0,001$). Konuyla ilgili yeterince çalışma olmamasına rağmen manganezin immun sistemin bir parçası olması dolayısıyla (Mc Dowell, 1992; ve Grace ve Clark, 1991; Uyanık, 2000) enfeksiyondan etkilenmesi söz konusu olabilir. Ayrıca Wallace ve Maguire (2006)'ın yapmış oldukları çalışmada Mn'in bakteriyel virulens için esansiyel olduğu bildirilmiştir. Söz konusu durum leptospirozisli hayvanlarda Mn düzeyinin düşmesine neden olabileceği şeklinde yorumlanabilirken, Kehl-Fie ve Skaar (2010)'ın yapmış oldukları çalışmada ise hem Mn hem de Zn'nun mikroorganizmaların virulensi için gerekli olduğu ve konakçı organizmanın bu virulense engel olmak için Mn ve Zn'nun azalmasını sağlamaya çalışmasıyla immun sisteme destek verdiği bildirilmiştir. Leptospirozisli hayvanlarda hem Mn hem de Zn'nun plazma düzeylerinin düşmüş olması bakteriler tarafından kullanılması ve bakterilerin kullanımına engel olması için organizma tarafından azaltılması

dolayısıyla gerçekleşebileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Sonuç olarak leptospirozisli sığırlarda serum Cu düzeyinin kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek olmasının hastalığa karşı artan immun yanıtla ilgili olabileceği düşünüldü. Benzer şekilde hasta hayvanlarda serum çinko ve manganez düzeylerindeki azalmaların bu iz elementlerin immun yanıtta kullanılmasına, enfeksiyon etkenlerinin virulensleri için Zn ve Mn'i harcamalarına bağlı olabileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- Adler B, Moctezuma AP, 2010: Leptospira and Leptospirosis. *Vet Microbiol*, 140, 287-296.
- Akın I, 2004. İz Elementler ve sığır tırnak hastalıkları. *Vet Cerrahi Derg*, 10, 54-61.
- Akış ME, Dede S, 2009: Babesiosisli Koyunlarda Çinko ve Bakır Konsantrasyonları ve Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesinin Saptanması. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (2), 33-37.
- Artington JD, 2002: Essential trace minerals for grazing cattle in Florida. AN 086 Animal Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, October.
- Atakişi A, Kırmızıgül AH, Atakişi O, Karadağ Sarı E, Öğün M, Maraşlı Ş, Özcan A, Karapehlivan M, Büyük F, Çelebi Ö, 2014: Leptospirozlu Sığırlarda Plazma Nitrik Oksit (NO) ve Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α) Düzeyleri ile Adenozin Deaminaz (ADA), Gama Glutamil Transferaz (GGT) Aktiviteleri ve Perifer Kan Lökositlerinde Alfa Naftil Asetat Esteraz (ANAE) Yöntemiyle Lenfosit Oranlarının Belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20 (3), 451-455.
- Batmaz H., 2010: Sığırların İç Hastalıkları Semptomdan Tanıya Tanıdan Sağaltıma. *VETAR Bursa Ltd.Şti.* Nilüfer, Bursa, s. 291.
- Boden JD, Oleske JM, Mavin A, Lavenhar MA, 1990: Effects of one year of supplementation with zinc and other micronutrients on cellular immunity in the elderly. *J Am Coll Nutr*, 9(3), 214-225.
- Burtis CA., Ashwood ER., 1999: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed., WB Saunders Co, Philadelphia.
- Çimtay İ., Ölçülü A., 2000. Elazığ yöresinde klinik olarak sağlıklı görünen sığırlarda kan plazması ve kıl bakır değerleri üzerinde araştırmalar. *Türk Vet Anim Sci*, 24, 267-273.
- Crea T, Guerin V, Ortega F, 1990: Zinc and the immune system. *Ann Med-intern*, 141(5), 447-451.
- Dokey DL., 1983: *Clinical Pathology and Diagnostic Procedures*. Second ed., Bailliere Tindall, London.
- Erdoğan HM, Karapehlivan M, Citiş M, Atakisi O, Uzlu E, Unver A, 2008: Serum sialic acid and oxidative stress parameters changes in cattle with leptospirosis. *Vet Res Com*, 32, 333-339.
- Erdoğan S, Erdoğan Z, Şahin N, 2003: Mevsimsel olarak merada yetiştirilen koyunlarda serum bakır, çinko ve seruloplazmin düzeyleri ile yün bakır ve çinko değerlerinin araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 50, 7-11.

- Eren V, Atay O, Özdal Gökdal Ö, 2011: Organik bakır ve çinko'nun tokluklarda canlı ağırlık ile bu minerallerin serum ve yapağıdaki düzeyleri üzerine etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 17, 95-99.
- Grace ND, Clark RG, 1191: Trace elements requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. *Proceeding of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*, 321-346.
- Harris B, Adams AL, Van Horn HH, 1994: Mineral Needs of Dairy Cattle. University of Florida, Florida Cooperative Extension Service Circular, 468, April.
- Hays VW, Swenson MJ, 1984: Minerals and bones. In, "Dukes' Physiology of Domestic Animals". Swenson MJ., (Ed): Tenth ed., Cornell University Press, London, 449-466.
- Healy J, Tipton K, 2007: Ceruloplasmin and what it might do. *J Neurol Transm*, 114(6): 777-781.
- Kehl-Fie TE, Skaar EP, 2010: Nutritional immunity beyond iron: a role for manganese and zinc. *Current Opinion in Chemical Biology*, 14, 218-224
- Kelly WR., 1974: Veterinary Clinical Diagnosis. Second ed., Bailliere Tindall, London.
- Lowanitchapat A, Payungporn S, Sereemasapun A, Ekpo P, Phulsuksombati D, Poovorawan Y, Chirathaworn C, 2010: Expression of TNF- α , TGF- β , IP- 10 and IL-10 mRNA in kidneys of hamsters infected with pathogenic *Leptospira*. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 33, 423-434.
- Mc Dowell LR, 1992: Minerals in animal and human nutrition. Academic Press INC California, 152-371.
- Mohammadi E, Sakhaee E, 2015: Association between serum copper concentration and the risk of bovine leptospirosis. *Comparative Clinical Pathology*. DOI 10.1007/s00580-015-2069-0.
- Paksoy N, Özçelik M, Erkiç EE, Büyük F, Ögün M, Kırmızıgül AH, 2013: Kars Yöresindeki Dermatofitozisli Sığırlarda Serum Bakır, Çinko ve Mangan Seviyeleri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 8(3), 210-215.
- Papp-Wallace KM, Maguire ME, 2006: Manganese transport and role of manganese in virulence. *Annual Review of Microbiology*, 60, 187-209.
- Perkin-Elmer Corporation, 1996: Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy.
- Quin PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR, 1994: *Clinical Veterinary Microbiology*. 1st ed., 292-298, Wolfe Publishing, London.
- Rodostits OM, Blood DC, Gay CC, 1994: Veterinary Medicine: A Text Book of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats. 8th ed., 884-908, Bailliere Tindall, London.
- Uyanık F, 2000: Bazı izelementlerin organizmadaki başlıca fonksiyonları ve bağışıklık üzerine etkileri. *E. Ü. Journal of Health Sciences*, 9(2), 49-58.
- Wellinghausen N, Jöchle W, Reuter S, Flegel WA, Grünert A, Kern P, 1999: Zinc status in patients with alveolar echinococcosis is related to disease progression. *Parasite Immunol*, 21(5), 237-241.

***Yazışma Adresi:** Nilgün ÜREN PAKSOY
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: nilgun_uren@hotmail.com