

Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde süt ve serum laktoferrin düzeyleri*

Gülcan AVCI¹, Tevhide SEL²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyon; ² Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Özet: Ankara keçilerindeki laktoferrinin süt ve kan serum düzeyleri laktasyon periyodu boyunca ELISA ile belirlenmiş ve süt serumu ile kan serum proteinleri poliakrilamid jel elektroforezde incelenmiştir. Toplam 18 baş Ankara keçisinden laktasyonun 1., 2., 3., 5., 7., 11., 15., 20., 30., 45. ve 60. günlerinde süt ve kan örnekleri alınmıştır. Mastitis indikatör kağıt ile kontrol edilen süt numunelerinde direk somatik hücre sayımı yapılmıştır. Kesilmiş süt proteinleriyle kan serum proteinlerinin % dağılımları poliakrilamid jel elektroforezde incelenmiştir. Elektroforez bantlarının değerlendirilmesinde yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığındaki proteinin süt serumundaki dansitometrik % dağılımı laktasyonun başlangıcında daha düşükken, laktasyon periyodu boyunca giderek artmış ve 2 katı seviyesine ulaşmıştır. Elektroforez bantlarının değerlendirilmesinde yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığındaki serum proteininin dansitometrik % dağılımı, ilk üç gün istatistik olarak laktasyonun diğer günlerine göre yüksek bulunmuştur. Laktasyonun 3. gününden itibaren ise giderek azalan bir % dağılım göstermiştir. Süt ve serumdaki laktoferrin düzeyleri ELISA ile belirlenmiştir. Laktasyon süresince süt ve serum laktoferrin miktarları ELISA yönteminde sırasıyla ortalama 39.43-63.97 µg/ml ve 2.17-3.08 µg/ml arasında değişim göstermiştir. Ankara keçilerinde süt ve serum laktoferrin düzeyleri laktasyon periyodu boyunca istatistik olarak önemli bir değişim göstermemiştir. Tiftik verimi yönüyle yetiştirilen Ankara keçilerinde süt ve serum laktoferrin düzeyleri literatür verilerindeki domuz, inek, köpek, koyun ve keçi gibi laktasyondaki diğer hayvanların süt ve serum laktoferrin düzeylerine göre çok düşük bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Ankara keçisi, demir bağlayan glikoprotein, laktoferrin, süt proteinleri

Milk and serum lactoferrin levels in Angora Goats during lactation period

Summary: Milk and serum lactoferrin levels which is important for human and animal health because of its several properties during lactation period in Angora Goats were determined. Milk and blood samples have been taken from 18 Angora Goats in 1st, 2nd, 3rd, 5th, 7th, 11th, 15th, 20th, 30th, 45th and 60th days of lactation. In milk samples, somatic cell counts have been performed following the control of milk samples using indicator papers for mastitis. Fat and casein were removed from milk samples by centrifugation and using glacial acetic acid precipitation respectively. Following that proteins were precipitated from milk serum by ammonium sulphate precipitation. Obtained whey proteins of milk and blood serum proteins were applied to Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) system. Milk and serum lactoferrin levels were detected using ELISA. Dansitometric analysis of whey protein bands on the gels showed that a protein with approximately 78.000 dalton molecular weight showed a decreased percentage at the beginning of lactation. This 78.000 dalton protein was gradually increased towards the end of lactation up to the two fold increase. Dansitometric analysis of serum protein bands on the gels showed that a protein with approximately 78.000 dalton molecular weight showed an increase in the first three days of lactation. After the first three days, this 78.000 dalton protein was gradually decreased towards the end of lactation. Milk and serum lactoferrin levels during lactation period were found to be between 39,43-63,97 µg/ml and 2,17 – 3,08 µg/ml by ELISA respectively. Changes in milk and serum lactoferrin levels in Angora Goats were not found to be statistically important during lactation period. Milk and serum lactoferrin levels in Angora goats grown for mohair production were found to be lower in comparison to the other animals (cow, sheep, goat, swine *etc.*) in lactation.

Key words: Angora Goat, iron-binding glycoprotein, lactoferrin, milk proteins

Giriş

Laktoferrin çeşitli memeli türlerinin süt ve diğer vücut sıvılarında bulunan bakteriyostatik, transkripsiyonel düzenleme, granülopozis gibi pek çok biyolojik özelliği olan demir bağlayıcı bir glikoproteindir. Çeşitli

özellikleri nedeniyle gıda, ilaç ve beslenme sektörlerinde laktoferrinin kullanım alanlarına ilişkin çalışmalar yoğunlaşmıştır (17).

İlk kez süttten elde edildiği için bu isimle anılan laktoferrin sadece süte özgü bir protein değildir.

* Aynı adlı doktora tezinden özetlenen bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından (Proje No: 02.VT.10) desteklenmiştir.

Laktoferrin meme bezi epitel hücrelerinin yanısıra göz-yaşı bezi, tükrük bezleri ve bronşiyal bezlerin epitel hücreleri ile seminal vesiküller, endometriyum mukozası ve böbrek tarafından da salgılanmaktadır. Bunlardan başka laktoferrin heterofilik lökosit granüllerinde yoğun olarak bulunmaktadır (3, 11). Laktoferrin plazmada da bulunmasına karşın miktarı süttekine oranla önemli ölçüde düşük seviyededir(9). Plazma laktoferrini yangısal reaksiyonlar boyunca nötrofiller tarafından sentezlenip salınan laktoferrinden köken almaktadır (18). Süt laktoferrin miktarı türler arasında büyük oranda farklılık göstermektedir. İnsan ve diğer primatlar ile domuz ve fare sütünde laktoferrin seviyesi yüksek olmasına karşın, inek ve diğer gevişgetirenlerin sütünde çok düşüktür. Süt laktoferrin seviyesi düşük olan türlerde ise süt transferrin seviyesi yüksektir. Böylece sütteki Fe miktarına bağlı olarak birçok farklı türün sütünde hem transferrin hem de laktoferrinin birlikte bulunduğu görülmektedir (11).

Bu çalışma ile sağlıklı Ankara keçilerindeki süt ve serum laktoferrin miktarlarının laktasyon günlerine göre değişimi ortaya konarak konu ile ilgili çalışmalara kaynak oluşturması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmanın hayvan materyalini Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsünde aynı bakım ve besleme şartlarında yetiştirilen 3-6 yaşlı 18 dişi Ankara keçisi oluşturmuştur.

Araştırmada kullanılacak olan 3-6 yaşlı dişi Ankara keçileri 09.11.2001 tarihinde ilk teke katımı ve 10 gün sonra 20.11.2001 tarihinde ikinci teke katımı ile gebe bırakılmıştır. 5 aylık gebelik süresi boyunca izlenen ve bu süre sonunda aynı gün doğum yapan sağlıklı 18 dişi Ankara keçisi belirlenmiştir. Doğumu takiben 1.gün ve laktasyonun 2., 3., 5., 7., 11., 15., 20., 30., 45. ve 60. günleri kan örnekleri Vena Jugularis'ten 10 ml'lik tüp-ler, süt örnekleri ise her hayvanın 2 meme lobundan 20 ml'lik plastik viallere alınmıştır. Mastitis indikatör kağıt ile kontrol edilen her bir süt örneğinde somatik hücre sayımı yapıldıktan sonra Ankara Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarları'ndaki ultra santrifüj kullanılarak süt serumu elde edilmiştir. Meme kontrolü için Bovi-Vet mastitis indikatör kağıt kullanılmıştır. Süt örneklerinde somatik hücre sayımı, Food and Drug Administration (2)'de belirtildiği şekilde Pyronin-Y metil green ile boyanmış ve direk mikroskopik somatik hücre sayımı ile (1) tesbit edilmiştir. Süt serumlarının elde edilmesinde Welty (23) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. Süt serumunun elektroforeze hazırlanmasında Redman (16) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. Kan serumunda toplam protein miktar tayini Biüret metoduna göre yapılmıştır (22). Süt ve serumdaki laktoferrin elektroforezi SDS-PAGE yöntemiyle yapılmıştır (8). Elektroforez ile ayırımı yapılan süt ve serum protein bantları dansitometrik

olarak 590 nm'de değerlendirilmiştir. Değerlendirmede protein standardı (LMV Elektroforez kalibrasyon kit katalog no: 17-0446-01) ve laktoferrin standardından (katalog no: Sigma L-9507) yararlanılmıştır. Süt ve serum laktoferrin düzeyleri laktoferrin ELISA kit kullanılarak ölçülmüştür (BIO-X Diagnostics, LF 03B28, Belçika). Testte anti-sığır laktoferrine özel multiklonal antikorla (diğer türlerle çapraz reaksiyon vermektedir) kaplı mikropate kullanılmış ve ELISA okuyucuda 450 nm'de okunmuştur. Süt ve serum laktoferrin düzeyleri (10000-78,125 ng/ml) standart kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır. Sonuçların istatistik değerlendirilmesinde Wilcoxon iki örnek testi ve Pearson korelasyon testinden yararlanılmıştır (19).

Bulgular

Laktasyon süresi boyunca serum toplam protein düzeyleri (g/dl) ölçülmüş ve serum toplam protein düzeylerine ilişkin sonuçlar Tablo 1'de belirtilmiştir.

Tablo 1.Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde serum toplam protein düzeyleri(g / dl)

Table 1. Serum total protein levels in Angora Goats during lactation period (g /dl)

Günler	n	X ± Sx	minimum	maksimum	
1.	18	6.76 ± 0.13	5.6	8.0	8.0
2.	18	6.51 ± 0.11	5.7	7.4	7.4
3.	18	6.90 ± 0.01	6.2	7.6	7.6
5.	18	6.90 ± 0.01	6.2	7.5	7.5
7.	18	7.02 ± 0.15	5.1	8.0	8.0
11.	18	7.80 ± 0.01	7.1	8.3	8.3
15.	18	7.27 ± 0.16	5.7	8.4	8.4
20.	18	7.12 ± 0.10	6.3	8.0	8.0
30.	18	6.90 ± 0.14	6.0	8.0	8.0
45.	18	7.10 ± 0.14	6.2	8.6	8.6
60.	18	7.10 ± 0.16	5.4	8.5	8.5

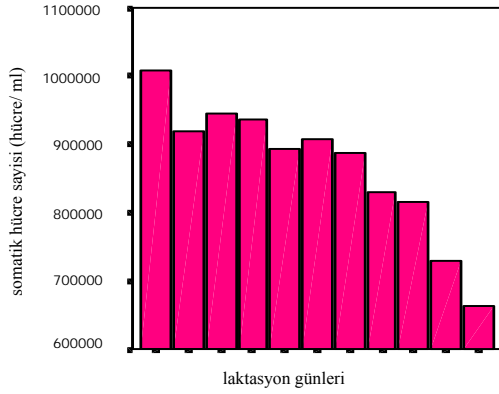
p ≤ 0.05 düzeyinde istatistik olarak önemli

Tablo 2. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde süt somatik hücre sayısı (hücre/ml)

Table 2. Milk somatic cell count in Angora Goats during lactation period (cell/ml)

Günler	n	X ± Sx	minimum	maksimum	
1.	18	1006715.2 ± 25660.6	725489	1147056	1147056
2.	18	918007.7 ± 25007.5	751632	1127449	1127449
3.	18	945059 ± 27462.4	673201	1078429	1078429
5.	18	935336 ± 24570.3	813724	1127449	1127449
7.	18	893897.8 ± 30164.9	607842	1098037	1098037
11.	18	908603.6 ± 32026.1	617646	1156860	1156860
15.	18	886174.6 ± 19197.5	696077	990194	990194
20.	18	826530.8 ± 27144.6	575162	1039213	1039213
30.	18	814158.8 ± 51866.9	588234	1127448	1127448
45.	18	728803.5 ± 29565.4	529411	960782	960782
60.	18	662308 ± 16111.8	509803	784312	784312

p ≤ 0.05 düzeyinde istatistik olarak önemli



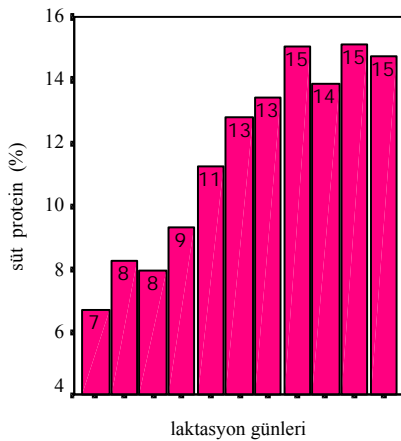
Şekil 1. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde süt somatik hücre sayısı (hücre/ml)
Figure 1. Milk somatic cell count in Angora Goats during lactation period (cell/ml)

Tablo 3. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip süt serum proteininin yüzde dağılımı (%)

Table 3. Percentage distribution of approximately 78.000 dalton sized milk serum protein in Angora Goats during lactation period (%)

Günler	n	X ± Sx	minimum	maksimum
1.	18	6.67 ± 0.90	3.20	16.20
2.	18	8.26 ± 0.99	2.80	18.70
3.	18	7.93 ± 0.74	3.60	15.60
5.	18	9.32 ± 0.82	4.80	17.50
7.	18	11.23 ± 0.94	4.10	20.10
11.	18	12.79 ± 1.42	3.50	26.50
15.	18	13.43 ± 1.38	3.90	24.70
20.	18	15.05 ± 1.14	6.70	21.60
30.	18	13.85 ± 0.94	6.80	20.60
45.	18	15.11 ± 0.78	9.20	21.12
60.	18	14.72 ± 1.01	9.70	23.60

$p \leq 0.05$ düzeyinde istatistik olarak önemli



Şekil 2. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip süt serum proteininin yüzde dağılımı (%)

Figure 2. Percentage distribution of approximately 78.000 dalton sized milk serum protein in Angora Goats during lactation period (%)

Laktasyon süresi boyunca süte somatik hücre sayısı (hücre sayısı/ml) değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 2'de ve Şekil 1'de belirtilmiştir. Laktasyon periyodu boyunca somatik hücre sayısının giderek azaldığı tespit edilmiştir.

Laktasyon süresi boyunca yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip süt serum protein bantının elektroforetik görünümü değerlendirilmiş ve bu bantta oluşan oransal değişimlere ilişkin sonuçlar Tablo 3.'de ve Şekil 2.'de belirtilmiştir.

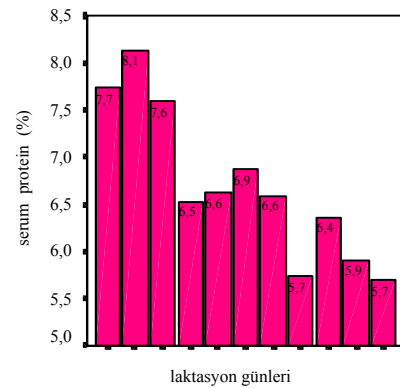
Laktasyon süresi boyunca yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip serum protein bantının elektroforetik dağılımı değerlendirilmiştir. Bu bantta oluşan % değişimlere ilişkin sonuçlar Tablo 4.'de ve Şekil 3.'de belirtilmiştir.

Tablo 4. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip serum proteininin yüzde dağılımı (%)

Table 4. Percentage distribution of approximately 78.000 dalton sized serum protein in Angora Goats during lactation period (%)

Günler	n	X ± Sx	minimum	maksimum
1.	18	7.73 ± 0.21	6.30	9.30
2.	18	8.13 ± 0.18	6.80	10.0
3.	18	7.58 ± 0.19	5.80	8.90
5.	18	6.52 ± 0.38	4.90	11.90
7.	18	6.62 ± 0.19	5.0	8.10
11.	18	6.86 ± 0.19	4.80	8.10
15.	18	6.58 ± 0.16	5.30	7.90
20.	18	5.73 ± 0.14	4.90	6.90
30.	18	6.36 ± 0.16	5.20	8.0
45.	18	5.91 ± 0.15	4.10	6.80
60.	18	5.01 ± 0.17	4.20	6.40

$p \leq 0.05$ düzeyinde istatistik olarak önemli



Şekil 3. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip serum proteininin dağılımı (%)

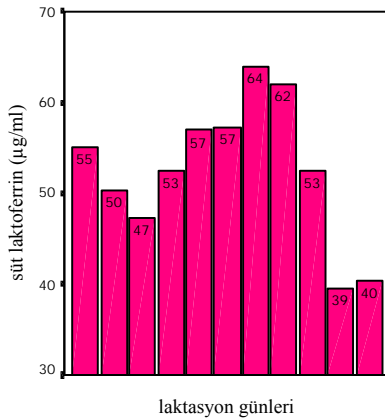
Figure 3. Percentage distribution of approximately 78.000 dalton sized serum protein in Angora Goats during lactation period (%)

Tablo 5. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde süt laktoferrin düzeyleri ($\mu\text{g/ml}$)

Table 5. Milk lactoferrin levels in Angora Goats during lactation period ($\mu\text{g/ml}$)

Günler	n	$\bar{X} \pm S_x$	minimum	maksimum
1.	17	55.14 \pm 8.02	11.7	135.0
2.	17	50.37 \pm 7.87	12.7	127.5
3.	18	47.27 \pm 7.20	12.0	135.0
5.	16	52.55 \pm 8.38	12.0	150.0
7.	17	56.92 \pm 10.41	13.5	187.5
11.	15	57.35 \pm 8.96	12.0	105.0
15.	15	63.97 \pm 17.43	8.0	277.0
20.	15	61.98 \pm 14.96	12.0	225.0
30.	15	52.50 \pm 9.96	12.0	127.0
45.	17	39.43 \pm 7.82	11.7	105.0
60.	17	40.46 \pm 6.74	15.0	97.5

$p \leq 0.05$ düzeyinde istatistik olarak önemli



Şekil 4. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde süt laktoferrin düzeyleri ($\mu\text{g/ml}$)

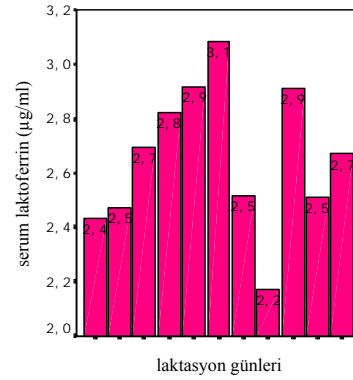
Figure 4. Milk lactoferrin levels in Angora Goats during lactation period ($\mu\text{g/ml}$)

Tablo 6. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde serum laktoferrin düzeyleri ($\mu\text{g/ml}$)

Table 6. Serum lactoferrin levels in Angora Goats during lactation period ($\mu\text{g/ml}$)

Günler	n	$\bar{X} \pm S_x$	minimum	maksimum
1.	18	2.43 \pm 0.19	1.5	5.2
2.	18	2.47 \pm 0.16	1.6	4.2
3.	18	2.69 \pm 0.26	1.2	6.0
5.	18	2.82 \pm 0.35	1.2	8.0
7.	18	2.91 \pm 0.29	1.4	6.4
11.	18	3.08 \pm 0.32	1.7	6.6
15.	18	2.51 \pm 0.25	1.0	5.6
20.	18	2.17 \pm 0.14	1.0	3.4
30.	18	2.91 \pm 0.29	1.2	6.4
45.	18	2.51 \pm 0.19	1.4	5.2
60.	18	2.67 \pm 0.22	1.3	4.8

$p \leq 0.05$ düzeyinde istatistik olarak önemli



Şekil 5. Laktasyon periyodundaki Ankara keçilerinde serum laktoferrin düzeyleri ($\mu\text{g/ml}$)

Figure 5. Serum lactoferrin levels in Angora Goats during lactation period ($\mu\text{g/ml}$)

Laktasyon süresi boyunca ELISA ile süt laktoferrin düzeyleri ($\mu\text{g/ml}$) değerlendirilmiş ve buna ilişkin sonuçlar Tablo 5.'de ve Şekil 4'de belirtilmiştir.

Laktasyon süresi boyunca ELISA ile serum laktoferrin düzeyleri ($\mu\text{g/ml}$) değerlendirilmiştir. Serum laktoferrin seviyelerine ilişkin sonuçlar Tablo 6.'de ve Şekil 5'de belirtilmiştir.

Laktasyon süresi boyunca ELISA ile belirlenen süt ve kan serum laktoferrin düzeyleri arasında laktasyonun 1. günü ($r=-0.05$), 5. günü ($r=-0.94$) ve 30. günü ($r=-0.22$) negatif ilişki ve 15. günü ($r=0.014$), 45. günü ($r=0.013$) ve 60. günü ($r=0.021$) pozitif ilişki bulunmasına rağmen istatistik olarak anlamlı görülmemiştir ($p \geq 0.05$).

Laktasyon süresi boyunca ELISA ile ölçülen süt laktoferrin düzeyleri ile somatik hücre sayıları arasında laktasyonun 1. günü ($r = 0.307$), 5. günü ($r = 0.073$), 15. günü ($r=0.342$), 45. günü ($r=0.316$) ve 60. günleri ($r=0.386$) ile süt laktoferrin arasında pozitif ilişki bulunurken 30. gün ile arasında ($r=-0.089$) negatif ilişki bulunmuş ancak istatistik olarak anlamlı görülmemiştir ($p \geq 0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Süt serumunun SDS-PAGE ile analizinde yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip süt proteininin dansitometrik % dağılımları laktasyonun başlangıcında daha düşük bir dağılım gösterirken laktasyon periyodu boyunca giderek artmış ve 2 katı seviyesine ulaşmıştır .

Shimazaki ve ark (17), Holstein inek, Saanen keçi ve Boordola Dorset koyunlarında kolostrum laktoferrininin çeşitli biyokimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Buna göre %12.5'lük SDS-PAGE'de sığır kolostrum apo-laktoferin-C ve sığır süt laktoferrin-M 79.000 dalton, keçi laktoferrini 78.000 dalton, koyun laktoferrini 80.000 dalton molekül ağırlığında tespit edilmiştir. Aynı çalışmada insan ile sığır laktoferrini immunokimyasal olarak birbirinden farklı bulunurken, sığır ile keçi ve

koyun laktoferrini arasında kısmen tanımlanabilen anti-jenik bölgeler tespit edilmiştir.

Nam ve ark.(12), Kore keçilerinde yaptıkları çalışmada iyon değişim kromatografisinden elde edilen fraksiyonları %12'lik SDS-PAGE'de incelemişlerdir. Buna göre 82-94. fraksiyonlarda toplanan laktoferrin SDS-PAGE'de tek bant halinde görülmüş olup Saanen keçisiyle aynı molekül ağırlığa sahiptir. Western Blot analizine göre Kore keçisi laktoferrini sığır ve Saanen keçinininki ile benzer epitopik alanlara sahiptir.

Buchtan (4), Merinos koyunlarında doğum sonrası 4-7. günler arasında inceledikleri kolostrum laktoferrininin 80.000 dalton ağırlığında olup sığır ve insan laktoferrini ile sırasıyla %80 ve %50'den daha fazla benzerlik gösterdiğini tespit etmiştir. Kolostrum laktoferrin seviyesinin doğum haftası boyunca 500 µg/ml'yi aşmaması ve hızla 100 µg/ml'ye düşme nedeni laktoferrin sentezinin azalmaya başlaması ve örneklerin 4. günden sonra alınmasından ileri geldiği bildirilmiştir. Ankara keçilerinde %10'luk SDS-PAGE'de süt serumu ve kan serumu protein analizlerinde Western Blot analizi yapılmadığı için yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip protein laktoferrin olarak adlandırılmamıştır.

Yaklaşık 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip serum proteini ilk üç gün istatistik olarak laktasyonun diğer günlerine göre yüksek bir % dağılım göstermiştir. Laktasyonun 3. gününden itibaren ise giderek azalan bir % dağılım göstermiştir. Son örnek alımında ortalama % 5.01± 0.17 bulunmuştur. SDS-PAGE ile süt serumu ile kan serumu analizinde diğer süt proteinlerine göre 78.000 dalton molekül ağırlığına sahip süt proteininin oransal değişimi incelendiği için literatür verilerindeki değişim Ankara keçilerinde gözlenmemiştir. Laktasyon süresince sütteki laktoferrin miktarı ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. Laktasyonun 1. günü ortalama 55.14 ± 8.02 µg/ml seviyesinde olup 2., 3., 5., 7., 11., 15., 20., 30., 45. ve 60. günler ile arasında istatistik olarak bir önem ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır. Ancak laktasyonun 2. günü 45.gün ile 7. günü 45. ve 60. gün ile ve 30. günü 45. gün ile arasında ($p \leq 0,05$) istatistik olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur. Laktasyon boyunca ELISA ile süt laktoferrin düzeyleri ortalama 39.43 µg/ml ile 63.97 µg/ml arasında değişim göstermiştir(Tablo 5, Şekil 4). Laktasyon süresince serum laktoferrin miktarı ELISA yöntemiyle belirlendiğinde laktasyonun 1.günü ortalama 2.43 ± 0.19 µg/ml seviyesinde olup 20. gün ile 5., 7. ve 11. gün arasında $p \leq 0,05$ düzeyinde bir azalış bulunurken 30. gün ile aralarında $p \leq 0,05$ düzeyinde istatistik olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. Laktasyon periyodu boyunca serum laktoferrin düzeyleri ortalama 2.17 µg/ml ile 3.08 µg/ml arasında değişim göstermiştir.

Normal süte laktoferrin kesilmiş süt proteinleri içinde minör protein iken meme bezi tamamen involusyona uğradığında major protein durumuna geçmektedir. Alveolar boşluk içine kan proteinlerinin

pasif akışını normalde engelleyen geçirgen bariyerlerin yıkılmanması ya da salgı epitel hücrelerinin kapasitesinin kaybolması bu değişikliklerin sebebi olabilir (23). İnvolusyonun erken dönemlerinde süte özel olan yağ, laktoz, kazein, α-laktalbumin, β-laktoglobulin miktarları azalırken diğer komponentler olan lökosit, hidrolitik enzimler, immünglobülinler, serum albumin ve laktoferrin ise involusyon boyunca artar ki bu sütteki toplam protein miktarının artışına neden olur. Memede laktoferrin miktarındaki artış involusyonun da aktif olduğunu göstermektedir (7, 21). Doğumdan sonraki ilk 48 saat içinde iki önemli koruyucu protein olan laktoferrin ve sIgA miktarı yüksektir. Sonrasında ise laktoferrin, sIgA ve hücre elementler hem süt hacminin artışı hem de salgılanmanın azalması sonucu hızla düşmektedir (13)

Masson ve Heremans (11), yaptıkları çalışmada doğumu takiben insan, domuz ve kobay kolostrumunda laktoferrin miktarının arttığını bildirmişlerdir. Buna göre hem laktoferrin hem de transferrin miktarları laktasyon periyodu boyunca hayvandan hayvana çok büyük dalgalanmalar göstermiştir. Bireysel farklılık yüksek olmakla birlikte ortalama olarak her iki protein miktarında laktasyonun başlangıcında gittikçe azalma, laktasyon periyodu sonuna doğru tekrar bir artış görülmüştür. Agar jelde radial immunodiffüzyon ile laktoferrin miktar tayini yapılan çalışmada spesifik anti-human laktoferrini hem keçi hem de domuz sütü ile çapraz reaksiyon vermiştir.

Laktasyon periyodu boyunca Ankara keçilerinde ELISA ile süt ve serum laktoferrin düzeyleri yüksek bireysel farklılıklar göstermiştir. Masson ve Heremans (11)'in insan, domuz ve kobayda laktasyon periyodu boyunca süt ve kolostrum düzeylerinde tespit ettiği değişimler Ankara keçilerinde gözlenmemiştir.

Welty ve ark. (23), doğumdan 30 ile 200 gün önce süttten kesilen Jersey ve Holstein gebe ineklerde involusyon boyunca laktoferrin seviyelerini incelemişlerdir. Laktoferrin miktarı süttün düzenli olarak kesilmesinden sonraki 2 ile 4. günde artmaya başlamıştır. İlk hafta günlük artış 1,15 mg/ml iken 20 mg/ml olan en yüksek laktoferrin seviyesi involusyonun 3 ve 4. haftasından sonra elde edilmiştir.

Mac Kenzie (10), koyunlarda involusyonun 24 - 36. saatlerinde meme bezi toplam sıvı hacminin arttığını 3 ve 5. günlerde ise değişmeden kaldığını tespit etmiştir. Meme bezi sıvı resorbsiyonunun tek başına olmasa da laktoferrin miktarını artırabileceğini bildirmiştir.

Elliot ve Ark. (5),Yorkshire dişi domuzlarında doğumdan önceki 12 saat, doğum sonrası ilk 1 saat içinde olmak üzere laktasyonun 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 11., 14. ve 21. günlerinde sütteki laktoferrin değişimini incelemişlerdir. Buna göre doğum öncesi ve laktasyonun ilk 3 gününde laktoferrin 1300 µg/ml ile 1100 µg/ml olup en yüksek seviyededir. Laktasyonun 1. haftası boyunca laktoferrin miktarındaki hızlı düşüş süt miktarındaki artış

ve protein sentezinin azalması olarak açıklanmıştır. Laktasyon sonunda süt laktoferrin düzeyi 100 µg/ml'ye düşmüştür.

Dişi domuzlardaki bir çalışmada doğum öncesi serum ve süt laktoferrin seviyesinin laktasyonun 1. gününde önemli ölçüde arttığı 28. güne kadar ise düzenli olarak azaldığı ve süt ve serum laktoferrinin pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Laktasyonun 1. günü serum laktoferrin düzeyi 42 µg/ml iken sürekli azalarak laktasyonun 28. günü 22 µg/ml'ye düşmüştür. Sütten kesildikten 7 gün sonra ise 21µg/ml olarak ölçülmüştür. Süt örneklerinde ise laktasyonun 1. günü 1593 µg/ml ile çok yüksek seviyede iken 28. günü 408 µg/ml'ye düşmüştür. Doğum sonrası domuzlarda serum laktoferrinin artışı yangısal olaylar, doğum stresi, travma vb. nedenlerle sitokinlerin üretimini inhibe etmesi sonucu olduğu ileri sürülmüştür (24). Yang ve ark. (24)'nın sonuçları ile Elliot ve ark.(5)'nin sonuçları arasındaki farklılık laktoferrin tayin yöntemlerindeki farklılıktan ileri gelmektedir.

Çalışmadan elde edilen 2.17 – 3.08 µg/ml serum laktoferrin ile 39.43 – 63.97 µg/ml süt laktoferrin düzeyleri bugüne kadar yapılan çeşitli hayvanlardaki süt ve serum laktoferrin düzeylerine göre oldukça düşük değerlerde bulunmuştur. Ankara keçileri esas olarak tiftik yönünden yetiştirilen bir keçi ırkıdır, bu hayvanlardan et ve süt eldesi ikinci derecede öneme sahiptir. Nitekim Tsuji ve ark.(20)'nin verim yönleri ve ırkları farklı sığırlarda kolostrum laktoferrin miktarını ölçtükleri çalışmada süt sığırlarında kolostrum laktoferrin miktarı ortalama 2 mg/ml iken et sığırlarında 0.5 mg/ml bulunmuştur. Kolostrumdaki laktoferrin miktarı süt sığırlarında laktasyon sayısından etkilenirken, et sığırlarında etkilenmediği gözlenmiştir. Çok doğum yapmış dolayısıyla laktasyon sayısı yüksek süt sığırlarındaki laktoferrin miktarı 1. laktasyondaki süt sığırlarına göre 2-3 kat yüksek bulunmuştur. Farklı ırk etçi sığırlar arasında laktoferrin miktarlarındaki değişim çok düşük gözlenmiştir. Hayvanların yarısında laktoferrin düzeyi hemen hemen sıfır değerine yakın bulunmuştur.

Bu çalışmada elde edilen düşük süt ve serum laktoferrin düzeylerinin sebebi Ankara keçilerinin tiftik üretimine yönelik yetiştirilmesiyle ilgili olabilir. Ankara keçilerinde 2 aylık periyot boyunca yavruların annesini emmesi dışında süt sağımı yapılmamıştır.

Toplam 18 Ankara keçisinin 7'sinde ikiz yavrulama görülmüştür. İkiz yavrulayan keçiler ile tek yavrulayan keçilerin süt ve serum laktoferrin düzeyleri ile SDS-PAGE'deki süt ve serum proteinlerinin % dağılımları farklılık göstermemiştir. Süt ve serum laktoferrin düzeyleri ile SDS-PAGE'deki süt ve serum proteinlerinin yüzde dağılımlarında laktasyon periyodu boyunca hayvanlar arasında yüksek bireysel farklar gözlenmiştir (Tablo3,4 ve Şekil 2,3).

Laktasyon süresi boyunca süt ve serumdaki laktoferrin düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Laktasyonun 1. günü (r=-0.05), 5. günü (r=-0.94) ve 30.günü (r=-0.22) negatif ilişki ve 15. günü (r=0.014), 45. günü (r=0.013) ve 60. günü (r=0.021) pozitif ilişki bulunmasına rağmen istatistik olarak anlamlı ($p \geq 0.05$) görülmemiştir.

Petterson (15), keçilerin süt örneklerinde laktasyonun ortalarındaki somatik hücre sayısının laktasyon başlangıç ve sonlarına göre önemli ölçüde düşük olduğu bulunmuştur. Bunun laktasyon başlangıç ve sonlarında süt veriminin azalmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Süt ve yağ veriminin azalması keçi ve koyunlarda hücre sayısını artırır (14).

Laktasyon süresi boyunca süte somatik hücre sayısı (hücre sayısı/ml) değerlendirilmiştir. Laktasyonun başında yüksek olan somatik hücre sayısı laktasyon periyodu boyunca azalma göstermiştir (Tablo 2, Şekil.1.). Laktasyon süresi boyunca ELISA ile ölçülen süt laktoferrin düzeyi ile somatik hücre sayısı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Analiz sonucuna göre laktasyonun 30. günü hariç diğer günler ile süt laktoferrin düzeyleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur. Ancak istatistik olarak anlamlı ($p \geq 0.05$) görülmemiştir.

Harmon ve ark. (6), çalışmanın I. grubunda laktasyondaki 2,5 yaş üzerindeki Jersey ve Holstein-Friesian ineğin α -laktalbumin, serum albumin ve laktoferrin miktarları ile çeşitli parametrelerini incelemişlerdir. Buna göre somatik hücre sayısı 250.000 hücre/ml olan 20 inekte laktoferrin miktarı ortalama 0.35 mg/ml ölçülmüştür. Çalışma sonuçlarına göre laktoferrin, somatik hücre sayısı ile $p < 0.01$, serum albumini ile $p < 0.05$, laktasyon sayısı ile $p < 0.05$ önemlilik düzeyinde pozitif korelasyon göstermektedir. Laktoferrin ise sadece süt üretimi ile $P < 0,05$ önemlilik düzeyinde negatif korelasyon göstermiştir. Yaş, gebelik durumu ve laktasyon sayısı ile kesilmiş süt protein miktarları arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur.

Ankara keçilerinde laktasyonun 30. günü hariç süt laktoferrin düzeyleri ile somatik hücre sayıları arasındaki pozitif ilişki Harmon ve ark. (6)'nın bulguları ile uyumludur.

Sonuç olarak; ülkemize has bir ırk olan ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından "Gen Kaynağının Korunması" kapsamına alınan Ankara keçilerinde benzer bir çalışmaya rastlanılmamış olması nedeniyle Ankara keçilerinde süt ve serum laktoferrin düzeylerinin belirlenmesi ilk kez gerçekleştirilmiştir. Ankara keçilerindeki laktasyon periyodu boyunca 2.17 – 3.08 µg/ml serum laktoferrin ile 39.43 – 63.97 µg/ml süt laktoferrin düzeyleri literatür verilerindeki çeşitli hayvanların süt ve serum laktoferrin düzeylerine göre oldukça düşük değerlerde bulunmuştur. Bu düşük laktoferrin düzeyleri Ankara keçilerinin esas olarak tiftik verimi yönünde yetiştirilmesiyle ilgili olabilir. Ankara keçilerinde

laktasyon periyodu boyunca süt ve serum laktoferrin düzeyleri ile ilgili ilk verilerin elde edildiği bu çalışma çiftlik hayvanlarında yapılacak diğer araştırmalarla zenginleştirilmesi gerektiği inancındayız.

Kaynaklar

- Anonim(a):** *Direct microscopic count method*. Erişim tarihi: 06.11.2002
Erişim adresi: foodmicro.tamu.edu/EXER3.PDF
- Anonim(b):** *Food and drug administration milk laboratory evaluation form. Direct microscopic somatic cell count*. Erişim tarihi : 06.06.2002
Erişim adresi: forms.psc.gov/forms/FDA/FDA-2400d.pdf.
- Baveye S, Ellass, E, Mazurier J, Spik G, Legrand D** (1999): *Lactoferrin: a multifunctional glyco-protein involved in the modulation of the inflammatory process*. Clin Chem Lab Med, **37**, 281-286.
- Buchta R** (1991): *Ovine lactoferrin: isolation from colostrum and characterization*. J Dairy Res, **58**, 211-218.
- Elliot JI, Senft B, Erhardt G, Fraser D** (1984): *Isolation of lactoferrin and its concentration in sows' colostrum and milk during a 21-day lactation*. J Anim Sci, **59**, 1080-1084.
- Harmon RJ, Schanbacher FL, Ferguson LC, Smith KL**. (1975): *Concentration of lactoferrin in milk of normal lactating cows and changes occurring during mastitis*. Am. J Vet Res, **36**, 1001-1007.
- Hurley WL**. (1989): *Mammary gland function during involution*. J Dairy Sci, **72**, 1637-1646.
- Laemmli UK**. (1970): *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. Nature, **227**, 680-685.
- Lønnerdal B, Iyer, S.** (1995): *Lactoferrin: molecular structure and biological function*. Annu Rev Nutr, **15**, 93-110.
- MacKenzie DD** (1968): *Studies on the transfer of protein across the glandular epithelium of the mammary gland during lactation*. Aust J Exp Biol Med Sci, **46**, 273. In: FK Welty, KL Smith, FL Schanbacher (1976): *Lactoferrin concentration during involution of the bovine mammary gland*. J Dairy Sci, **59**, 224-231.
- Masson PL, Heremans JF** (1971): *Lactoferrin in milk from different species*. Comp Biochem Physiol, **39B**, 119-129.
- Nam MS, Shimazaki K, Kimura H, Lee KK, Y, DY** (1999): *Characterization of Korean native goat lactoferrin*. Comp Biochem Physiol, **98B**, 201-208.
- Neville CM** *Milk Secretion : An overview*. Erişim tarihi : 27.11.2001
Erişim adresi :http ://mammary.nih.gov/reviews/lactation/Neville 001/-31k.uk.html.
- Paape MJ, Poutrel B, Contreras A, Marco J, Capuco AV** (2001): *Milk somatic cells and lactation in small ruminants*. J Dairy Sci, **84**, E237-E244.
- Petterson K** (1981): *Cell content in goat's milk*. Acta Vet Scand, **22**, 226-237.
- Redman M, Chu, Shih-Rong W, Chung-Nan W, Vetnon GP** (1993): *Isolation and characterization of porcine milk lactoferrin*. Am J Vet Res, **54**, 1154-1159.
- Shimazaki K, Kawano N, Yoo, YC** (1991): *Comparison of bovine, sheep and goat milk lactoferrin in their electrophoretic behavior, conformation, immunochemical properties and lectin reactivity*. Comp Biochem Physiol, **98**, 417-422.
- Steijns JM, Van Hooijdonk ACM** (2000): *Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin*. Br J Nut, **84**, 11-17.
- Sünbülöğlu K, Sünbülöğlu V** (1994): *Biyostatistik*. Özdemir yayıncılık 5.baskı, Ankara.
- Tsuji S, Hirata Y, Mukai F, Ohtagaki S** (1990): *Comparison of lactoferrin content in colostrum between different cattle breeds*. J Dairy Sci, **73**, 125-128.
- Wang H, Hurley WL** (1998): *Identification of lactoferrin complexes in bovine mammary secretions during mammary gland involution*. J Dairy Sci, **81**, 1896-1903.
- Weichselbaum TE** (1946): *An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of blood serum and plasma*. Am J Clin Path., **10**, 40-49.
- Welty FK, Smith KL, Schanbacher FL**.(1976): *Lactoferrin concentration during involution of the bovine mammary gland*. J Dairy Sci, **59**, 224-231.
- Yang TS, Wu SC, Wang SR** (2000): *Serum and milk lactoferrin concentration and the correlation with some blood components in lactating sows*. Research in Veterinary Science, **69**, 95-99.

Geliş tarihi: 30.10.2003 / Kabul tarihi: 16.02.2004

Yazışma adresi:

Dr. Gülcan Avcı
Afyon Kocatepe Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı
Afyon
E-mail: gulcanavci@hotmail.com.