

## Arthritisi ishalli buzağlarda eklem sıvısı proteinlerinin SDS-PAGE ile elektroforetik analizi\*

Arif ALTINTAŞ<sup>1</sup>, Hamdi UYSAL<sup>1</sup>, Ulvi R. FİDANCI<sup>1</sup>, Ömer BEŞALTI<sup>2</sup>, Mert PEKCAN<sup>1</sup>, Serap Ü. AYPAK<sup>3</sup>, Gülay ÇİFTÇİ<sup>4</sup>, Başak HANEDAN<sup>5</sup>, Sibel BİLGİHAN<sup>6</sup>, Hilal KARAGÜL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Dışkapı, Ankara; <sup>2</sup> Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Dışkapı, Ankara; <sup>3</sup> Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Işıkli, Aydın; <sup>4</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Kurupelit, Samsun; <sup>5</sup> Dışkapı Veteriner Merkezi. İrfan Baştuğ Cad. 26/C Dışkapı, Ankara; <sup>6</sup> EVET Veteriner Tanı - Tedavi. 71 Sok 5/7 Emek, Ankara, TÜRKİYE.

**Özet:** Çalışmada, klinik olarak sağlıklı (kontrol) ve ishalli buzağlara ait arthritisi eklem sıvısı örneklerinde proteinlerin elektroforetik olarak incelenmesi (SDS-PAGE) amaçlanmıştır. Çalışmada 3-29 günlük sağlıklı 7 buzağı (kontrol) ile arthritisi gözlenen 19 ishalli buzağıdan (2-75 günlük) materyal olarak yararlanılmıştır. Eklem sıvısı proteinlerinin molekül ağırlıklarına göre ayırımı SDS-PAGE (8x10 cm mini-jelde %10 SDS içeren %7.5 akrilamid) ile gerçekleştirilmiştir. SDS-PAGE sonrası sağlıklı ve arthritisi eklem sıvılarında 48-50 kDa ve 56-57 kDa temel bandlar olarak gözlenmiştir. İki grup arasında fark yaratan 18 protein bandı dikkat çekici bulunmuştur. Sonuç olarak; eklem sıvısında 205.5; 200-190; 144-140; 110-100; 64-62; 39-40 ve muhtemelen ≤10 kDa protein bandlarının tek tek ya da birlikte ishalli buzağlarda arthritisin şiddetini belirleyici bir gösterge olabileceği ve protein bandlarda gözlenen değişikliklerin ishalli buzağlarda eklem bozukluğunun patofizyolojisinde rol oynayan etyolojik faktörleri anlamada yardımcı olabileceği, bu nedenle de Veteriner klinikte tanıl ve prognostik önemi olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Arthritisi, buzağı ishalli, eklem sıvısı, SDS-PAGE, sinovyal protein.

### Electrophoretic analysis of arthritic synovial fluid proteins by SDS-PAGE in diarrheic calves

**Summary:** In the study, synovial fluid samples obtained from clinically healthy calves (control) and diarrheic calves with arthritis were examined by electrophoresis (SDS-PAGE) to determine the distribution of denatured proteins for understanding their clinical importance. In the study, 3-29 days old 7 healthy calves (control) and 19 diarrheic calves observed in arthritis (2-75 days old) were used as material. Synovial fluid proteins were separated by SDS-PAGE (7.5% + 10% SDS-containing acrylamide, on 8x10 cm mini-gel) according to the molecular weights. Protein bands with the molecular weight of 48-50 kDa and 56-57 kDa were the main bands after SDS-PAGE analysis of joint fluids of calves with and without arthritis. Eighteen protein bands were dominantly found in arthritic group. As a result, joint fluid protein bands with the molecular weights of 205.5; 200-190; 144-140; 110-100; 64-62; 40-39 and <10 kDa may be important together or individually to determine the degree of severity of arthritis in calves. Moreover, these changes in protein bands may also be useful to understand the etiologic factors in the pathophysiology of arthritis. Therefore, obtained results may have a diagnostic and prognostic value in the veterinary clinics.

Key words: Arthritis, calf diarrhea, SDS-PAGE, synovial fluid, synovial protein

### Giriş

Buzağı ishalleri çeşitli etkenler, çevre ve yetiştirme uygulamaları ile bağlantılı olup klinik olarak ishal, eklem/eklemlerde yangı (arthritis/polyarthritis), şişlik ve hareket noksanlıkları, bazen de solunum bozuklukları ile seyrederek (5, 13, 22, 23, 24). Tanıl doğrulama eklem sıvısının yangısal özellik sergilemesi esasına dayanır (6). Eklem sıvısında viskozite, hyaluronik asit, glikoz ve protein düzeyleri de yararlı olabilir (1).

Eklem sıvısı (sinovyal sıvı) eklem iltihabı (arthritis) ve birçok romatizmal hastalıklar için biyolojik potansiyel bir kaynaktır (9). Eklem sıvısı serum, sinovyal doku ve eklem kıkırdağından köken alan proteinler için dinamik bir depodur. Sinovyal sıvı proteinlerinin kompozisyonu dolaşım sistemi ve eklem kıkırdağını etkileyen patofizyolojik durumları yansıtabilir (26). Bu protein profilleri de zaman içinde hastanın tedaviye verdiği yanıtı izlemeye ve eklem hasarını tahminde yardımcı olabilir (9).

\* Ankara Üniv. Veteriner Fak. Etik Kurulu Onayı ile gerçekleştirilen "Buzağı Septisemilerinde (ishal ve/veya poliartrit) Eklem Sıvısı Proteinlerinin Elektroforetik İncelenmesi ve Klinik Önemi" başlıklı, BAP: 2003-08-10-053 nolu projenin bir bölümünden güncellenerek özetlenmiştir.

Tablo 1. İshalli buzağılarda arthritisi karpal eklem sıvısı proteinlerinin molekül ağırlıklarına göre dağılımı  
Table 1. Molecular weight distribution of carpal synovial fluid proteins by SDS-PAGE in diarrheic calves with arthritis

Örnek No	İrk	Yaş (gün)	Molekül Ağırlıkları (kDa)					
			200-120	120-70	70-45	45-25	25-10	< 10
D1	Montofon	10	142.9	111.4 103.9 97.6	58.60 50.08 47.11	42.63 35.01	23.92	-
D2	Holştayn	6	196.0	112.0 99.1 99.16 77.19	59.17 51.18 46.71	40.03 37.3 35.5	24.45	-
D3	Holştayn	2	190.7	113.0 100.5 98.68	59.04 50.47 46.41	39.72 36.0	23.78	-
D4	Simental	10	194.8	111.0 102.0 96.0	70.0 58.41 48.92	44.5 39.07 35.9 31.85	23.12	-
D5	Holştayn	7	-	112.1 97.96	57.9 52.49 49.12 45.3	39.54 35.06	23.55	-
D6	Holştayn	30	-	111.4 97.75 74.0	58.14 46.37 45.7	37.45 35.11	23.62	-
D8	Yerli	30	-	-	58.02	-	-	-
D9	Esmer	60	125.4	108.6 102.8 97.68 77.77	58.31 47.71	44.45	22.06	-
D10	Holştayn	18	-	108.1 101.1 97.6 76.2	58.05 46.8	43.5	22.9	-
C1	Yerli	45	144.2	111.2 104.8 92.2	58.07 50.09	44.72 40.24	23.13	-
C2	Montofon	28	190.9 143.2	110.7 103.9 93.07	58.29 49.36 45.36	39.96	23.01	6.2
C3	Holştayn	18	190.7 144.0	110.4 102.5 92.54	58.95 47.86	44.05 39.86 31.77	23.77	6.27
C4	Holştayn	8	190.8 143.89	109.2 92.23 79.06 70.07	59.1 48.80	44.78 39.63 38.1	23.09	6.4
C5	Holştayn	60	205.5 145.1	109.1 100.5	64.43 62.87 58.76 46.54 45.56	39.54 31.17 30.05	23.22 21.8	6.9
C6	Holştayn	15	135.0	110.8 104.0 97.03	58.12 52.9 49.4	45.0 35.98 28.20	19.20	7.10
C7	Holştayn	25	197.9 134.8	111.0 104.3 96.43 73.21	59.0 56.55 50.0 45.7	35.93 32.63 29.65	23.1 19.20 14.7	7.8
C8	Holştayn	20	190.5 137	111.7 105 97.86	64.25 60.12 56.0 49.5	45.0 35.89 32.74 29.64	19.20	7.64
C9	Holştayn	75	199.67 196.3 136.5	111.5 104.9 97.13 73.45	69.09 56.0 49.89 45.52	35.59 32.33 28.14	20.21	6.5
C10	Holştayn	15	201.9 136.2	112.4 104.7 97.09 75.45	58.26 55.27 48.54	43.95 30.57 25.99	18.77	-

Elektroforez standart koşullarda eklem sıvısı örneklerinin izlenmesinde kullanılabilir ve sinovyal proteinlerin küçük bir alt kümesinin tanımlanması osteoarthritis ile ilişkili potansiyel belirleyici olabilir (26). Örneğin; sinovyal sıvı sitrulinleşmiş antijenlerin üretim yeri olarak Romatoid arthritiste incelemeye değer bulunmuştur (17). Veriler yangılı arthritiste sitrulinleşmiş otoantijenlerin basımı için eklem sıvısının önemini göstermektedir.

Eklem hastalıklarını incelemeye sinovyal proteinlerin denatüre halde elektroforezi de (SDS-PAGE) klinik için yararlı bilgiler verebilir (7, 8, 10, 11, 20, 21). Sinovyal sıvı büyük olasılıkla yangılı eklemde mevcut proteinleri temsil eder (21) ve sinovyal sıvı protein profili (proteom) hastanın tedaviye verdiği yanıtı izlemeye ve eklem hasarını tahminde kullanılabilir (9). Elektroforez yöntemi (SDS-PAGE) ile temporomandibular eklem bozukluğu bulunan hastalardan alınan sinovyal sıvıda hastalık ile ilişkili olarak farklı molekül ağırlıkta (14 – 700 kDa) 22 protein bandı belirgin olarak tanımlanmıştır (8). Diğer taraftan, eklem sıvısında 39-40 kDa protein bandının eklem hastalıkları belirteci olarak kullanılabileceği (12); 205 kDa (11) ve 10,85 kDa (25) proteinlerden romatoid faktör olarak yararlanılabileceği ileri sürülmüştür.

Bu bağlamda; romatoid arthritisi ve sağlıklı bireyler üzerinde gerçekleştirilen iki boyutlu elektroforezde (18) iki grup arasında farklı 8 protein tanımlanmış; Rosenkranz ve ark ise (21) Juvenil idiyopatik artrit ve kontrol grupların eklem sıvılarına ait proteom sonuçları arasında istatistik önemli 24 protein spotu saptamışlardır.

Günümüzde, arthritisi eklem sıvısında henüz karakterize edilmemiş bir protein yüksek düzeylerde bulunmuştur (4). Bu protein spotları arthritisi ile ilişkili aday proteinler ve belki de umut verici tanısal göstergeler olabilir ya da arthritisi için tedavi hedeflerine hizmet edebilir.

Bu çalışmada, ishali buzağılara ait arthritisi eklem sıvısında proteinlerin moleküler ağırlık esaslı (SDS-PAGE) incelenmesi ve sonuçlarının Veteriner klinikte kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metod

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi dahiliye ve cerrahi kliniklerine ishal ve eklemde şişlik şikayetleri ile getirilen 2-75 günlük (4'ü >30 günlük; 15'i <30 günlük) 11 Holştayn, 4 Montofon, 2 Yerli, 1 Esmer ve 1 Simental buzağı (7 erkek, 12 dişi) ile (Tablo 1) Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma Çiftliği'nde yetiştirilen ve klinik olarak sağlıklı görünen 3-29 günlük 7 Holştayn buzağı (kontrol) olmak üzere (Tablo 2) toplam 26 buzağı çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Çalışma, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Kararı (2002/10) ile uyumlu şekilde yürütülmüştür.

Sinovyal sıvı örnekleri karpal eklem üzerindeki deri kılları kırılarak alkol ile temizlendikten sonra aseptik koşullarda temiz cam tüplere yaklaşık 2 ml alınmıştır (artrosentez). Örnek alım sırasında anestezi dahil herhangi bir ön işlem uygulanmamıştır. Eklem sıvıları 16 000 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiş ve analize dahil edilmiştir.

Tablo 2. Sağlıklı buzağılarda normal karpal eklem sıvısı proteinlerinin molekül ağırlıklarına göre dağılımı  
Table 2. Molecular weight distribution of carpal synovial fluid proteins by SDS-PAGE in healthy calves

Örnek No	İrk	Yaş (gün)	Molekül Ağırlıkları (kDa)					
			200-120	120-70	70-45	45-25	25-10	< 10
1	Holştayn	7	197.8	110.6 98.83	56.7 50.8 47.6	39.57	23.65 10.02	6.7
2	Holştayn	4	164.1	111.7 99.39 97.38 87.7 70.2	57.2 49.06 46.4	39.44 37.1 32.96	23.8 22.18	-
3	Holştayn	4	164.0	111.7 97.78 70.13	56.76 48.6	44.34 37.0 29.86	23.65	-
4	Holştayn	5	163.5	111.5 97.07	56.98 48.54 44.26	36.9 29.2	22.99	-
5	Holştayn	3	205.0 164.2	111.4 96.4	68.07 56.0 48.6	44.47 36.66 29.16	22.09	-
6	Holştayn	29	-	111.3 98.3 95.0 73.05	69.89 56.38 48.58	44.45 38.5 37.06 29.02	22.48	-
7	Holştayn	27	-	110.7 97.95 95.06 73.89	69.05 57.64 48.8	44.47 37.09 29.29	23.24	-

Sinovyal sıvıda toplam protein miktarı tayininde Biüret yönteminden yararlanılmıştır (16).

Sinovyal denatüre proteinler SDS-PAGE ile (%7.5 akrilamid + %10 SDS içeren, 8x10 cm mini jelde, 20 µl örnek, 200 V ve 150 mA ve yaklaşık 60 dakika) molekül ağırlıklarına göre ayırt edilmiştir (14). Elektroferez öncesi eklem sıvısında mevcut olan müsün hyaluronidaz (Sigma) ile parçalanmış ve ortamdan uzaklaştırılmıştır. Elektroferezden sonra bandlar Coomassie Blue R-250 ile boyanıp metanol-asetik asit karışımında yıkanıp berraklaştırıldıktan sonra bir cam lam üzerine yerleştirilmiş ve molekül ağırlıkların hesaplanmasında elektrofereze uygun belirteç proteinler (12 protein karışımı; Sigma) kullanılmış ve Kodak Moleküler İmaj Analiz Yazılımı programından yararlanılmıştır.

### Bulgular

Buzağılarda sağlıklı eklem sıvılarının açık renkli, visköz oldukları, arthritisli eklem sıvılarının ise bulanık ve düşük viskozitede oldukları makroskopik olarak gözlenmiştir.

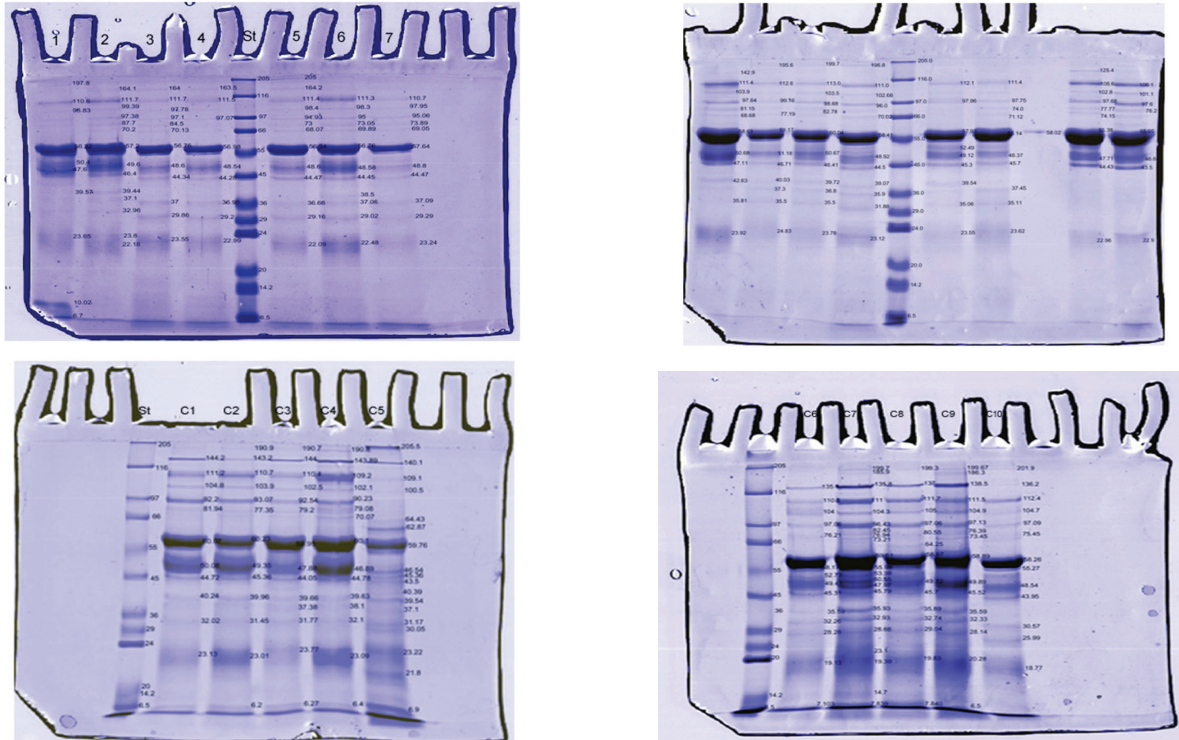
SDS-PAGE sonrası sağlıklı eklem sıvılarında 48-50 kDa ve 56-57 kDa temel bandlar olarak gözlenmiştir (Şekil 1 ve Tablo 2). Az belirgin olarak 44-45 kDa ve 22-23 kDa bandlar; daha az belirgin olarak da 29-30; 36-37 ve 110-111 kDa bandlar ortaya çıkmış; 10 ve 6,9 kDa ile 98-99; 69-70 ve 73-74 kDa protein bandları da silik

şekilde gözlenmiştir (Şekil 1). Sağlıklı eklem sıvısında >70 kDa bandlar arasında en belirgin olan 111 kDa band arthritli eklem sıvısında da gözlenmiştir (Şekil 1).

Arthritisli eklem sıvılarında da 48-50 kDa ve 56-57 kDa bandlar temel bandlar olarak gözlenmiş (Şekil 1 ve Tablo 1) ve <10 kDa bandların da (6,2; 6,9 ve 7,8 kDa) gözlemediği dikkat çekici bulunmuş, bazı sıvılarda 205,5 kDa ve 62-64 kDa bandlara rastlanmıştır (Şekil 1). Elde edilen 102-104 kDa, 140-144 kDa bandlar (140,1; 142,9; 143,2; 143,9; 144,0 ve 144,2 kDa) ve 190-199 kDa bandlar (190,7; 190,8; 190,9; 195,6; 196,8; 199,3; 199,7) arthritisli tüm sıvılarda ortak olarak gözlenmiştir. Molekül ağırlığı 205,5 kDa olan band sadece bir sıvıda tespit edilmiş (C5); <10 kDa bandlar (6,2; 6,9 ve 7,8 kDa) (C2; C5 ve C7) ve 39-40 kDa (39,07 kDa; 39,54 kDa ve 39,7 kDa) (sırasıyla D4; D5 ve D3) protein bandları bazı arthritisli sıvılarda görülmüştür (Tablo 1).

### Tartışma ve Sonuç

Buzağı ishalleri klinik olarak sulu beyazımsı dışkı, bir ya da birkaç eklemde şişlik, deformasyon (arthritis/polyarthritis), hızlı gelişen bir dehidrasyon ile seyreden ve genellikle ölümlü sonuçlanan akut bozukluklar olup ekonomik kayıp açısından önemlidir. Buzağılarda gözlenen ishal olgularında metabolik fonksiyonların yanında eklemlerin de bilhassa arthritis yönünden muayenesi önem arz etmektedir.



Şekil 1. Arthritisli ve sağlıklı (kontrol) eklem sıvılarının SDS-PAGE analizi ile belirlenen protein bandları  
Figure 1. Protein bands of SDS-PAGE analysis of synovial fluid from calves without (control) and with arthritis

D: Dahiliye kliniğine gelen arthritli buzağular (n=9)

C: Cerrahi kliniğine gelen arthritli buzağular (n=10)

Kontrol: Fakülte çiftliğinde mevcut sağlıklı buzağular (n=7)

St: standart protein karışımı (molekül ağırlıkları bilinen 12 protein)

Veteriner kliniklerine gelen ishali yenidoğan buzağılarda enfeksiyona bağlı olarak gelişen arthritisi/polyarthritisi olgularının varlığının saptanmasında ve prognozunda ishali buzağılardan alınan eklem sıvısında viskozite, hyaluronik asit, glikoz ve protein düzeylerinin ölçümünün yararlı olacağı vurgulanmıştır (1).

Çalışmada ishali 19 buzağının 16'sında monoarthritis, 3'ünde polyarthritis tespit edilmiştir. Eklemelerin klinik muayenesinde hareket kısıtlaması, şişlik, sinoviya miktarında artış, sıcaklık ve hassasiyet gözlenmiştir. Arthritis gözlenen ishali buzağılarda solunum sayısı ortalama 34 (18-60)/dakika olarak hesaplanmış ve normal değerlerden (15-25/dakika) (2) yüksek bulunmuştur. Bu bulgu literatüre (5, 13, 22, 23) uygun şekilde, buzağı ishallerinin arthritis yanında solunum bozukluğu ile de birlikte seyrettiğini göstermektedir.

İshali buzağılarda beden ısısı 35,0-40,6 °C, nabız sayısı 84-220/dakika arasında bulunmuş ve süt emen buzağılar için bildirilen nabız 60-70/dakika; solunum 15-25/dakika ve beden sıcaklığı (rektal) 37,7-39,1°C (2) değerlerden yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunlar da ishal ile seyreden buzağı hastalıklarında beklenen belirtiler olarak değerlendirilmiştir.

Sağlıklı eklem sıvısı visköz, açık sarı ve berrak iken artritli eklem sıvılarında bulanıklık, düşük viskozite gözlenmiştir. Protein içeriği sağlıklı eklem sıvılarında 1,66±0,27 g/dl ve arthritisi eklem sıvılarında 3,74±0,45 g/dl bulunmuş ve >2,0 değerler anormal (16) olarak yorumlanmıştır. Hasta eklem sıvılarının fiziksel özellikleri ve yüksek protein değeri eklemde akut bir yangı ve çevresi dokularda hasar ile ilişkilendirilmiştir (1). Arthritisi eklem sıvılarında yüksek protein değerleri etiyolojik olarak arthritis yanında ishal ile de ilişkilendirilebilir görüşündeyiz. Çünkü, bir enfeksiyon sırasında eklem sıvısı protein düzeyleri yükselir (16). Özellikle bakteriyel (*E.coli*) enzimler eklem sıvısında müninin bütünlüğünü bozabilir (dekompozisyon).

Damar geçirgenliği ve sinovyal membran geçirgenliği yangı ile bozulur ve hastalıklı eklem sıvısında protein miktarı değişir. Sağlıklı eklem sıvılarında protein değerleri 1.66±0.27 g/dl olarak hesaplanmıştır. Buzağılarda çeşitli eklemelere ait sıvıların protein değerinin % 0,5-2,2 arasında değiştiği ve idman veya bedensel çalışma ile arttığı bildirilmiştir (15). Ayrıca, karpal eklem protein içeriğinin (1,1-2,2 g/dl) tarsal ekleminkinden (0,9-1,0 g/dl) daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (3). Eklem sıvısı normal olarak, 2 g/dl veya aşağısı bir düzeyde protein içerir. Bu düzey eklem yangısında (arthritis) artarak 4 g/dl üzeri şiddetli yangıyı gösterir (19). İshali buzağılarda arthritisi eklem sıvısı protein değeri 3,74±0,45 g/dl; kontrol değerler ise (1.66±0.27 g/dl) bulunmuştur. Artış eklemde yangı ile ilişkilendirilebilir.

Biyolojik sıvılarda protein analizi hastalıkların tanısı ve izlenmesi adına yıllardır kullanılmaktadır. İlki toplam protein miktarı tayini, sonra proteinlerin elektroforetik ayrılması ve daha sonra immün yöntemler kullanarak spesifik proteinlerin miktarının tayini

olmuştur. Poliakrilamid jel protein elektroforezi (PAGE) ile klinik olarak sağlıklı bireylerin ve çeşitli nedenlere bağlı diz osteoarthritis olan hastaların serum ve sinovyal sıvı proteinlerinin moleküler kütle dağılımları değerlendirilmiştir (7).

Eklem sıvısı proteinlerinin SDS-PAGE ile ayırt edilmesi sonrasında sağlıklı eklem sıvılarında 13-14 protein bandı tesbit edilmiştir. Arthritisi bir eklem sıvısında (C8) 64,25 kDa band belirgin bulunmuştur (Şekil 1; Tablo 1). Temel bandlar olarak 56-57 ve 48-50 kDa bandlar gözlenmiştir. Az belirgin olanlar 44-45 kDa ve 22-23 kDa bandlar olup 29-30; 36-37 ve 110-111 kDa bandlar ise daha az belirgin olarak ortaya çıkmış; 10 ve 6-7 kDa ile 98-99; 69-70 ve 73-74 kDa bandlar da çok silik bir şekilde gözlenmiştir. Özellikle 70 kDa ve üzerindeki band sayısının arthritisi eklem sıvısında artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 1).

Sağlıklı eklem sıvısında >70 kDa bandlar arasında en belirgin olan 111 kDa band arthritisi sıvılarda da gözlenmiştir. Buna karşın, kontrollarda belirgin olmayan 92-93 kDa'luk band 4 arthritisi sıvıda (C1, C2, C3 ve C4) belirgin olarak gözlenmiştir (Şekil 1 ve Tablo 1). Ayrıca kontrollarda gözlenmeyen 143-144 kDa band arthritisi sıvılarda (C1, C2, C3, C4 ve C5) gözlenebilmiştir (Tablo 1 ve Tablo 2). Kontrollarda gözlenen 29-30 (K3-K7); 36-37 (K2-K7) ve 68-70 kDa bandlar (K5-K7) arthritisi sıvılarda belirgin olarak gözlenememiştir (Şekil 1).

İshali buzağının arthritisi eklem sıvılarında <10 kDa bandların gözlendiği de dikkat çekici bulunmuştur (Şekil 1 ve Tablo 1). Molekül ağırlığı 205,5 ve 62-64 kDa olan bandlar arthritisi eklem sıvılarında gözlenmiştir (C5, C8). Çalışmada, arthritisi eklem sıvılarında gözlenen protein artışı muhtemelen >70 kDa proteinlerde artışla ilgilidir. Özellikle 205.5; 144.2; 144.0; 143.9; 138.5; 137.0; 135.8; 109.2; 96.4; 93.0; 92.2; 90.2 kDa bandların diğerlerine göre bir adım önde buldukları söylenebilir (Tablo 1). Bu şekilde < 70 kDa 6 band (62.8; 25.9; 20.2; 19.3; 18.7 ve 6.5 kDa) ile birlikte toplam 18 protein bandı tek tek ya da birlikte ishali buzağılarda arthritis belirteci olabilir ya da bozukluğun etiyolojisine ışık tutabilir. Nitekim, eklem sıvısında 205 kDa proteinin (11) ve 10,85 kDa proteinin (25) romatoid faktör olarak kullanılabilirliği ileri sürülmüştür.

Benzer şekilde, temporomandibular eklem bozukluğu olan hastaların eklem sıvıları sağlıklı bireylerinkine karşılaştırılmış ve eklem sıvılarında yüksek molekül ağırlıklı proteinler (>140 kDa) arthritis ile alakalı bulunmuş ve protein bandlarında gözlenen değişikliklerin eklem bozukluğunun patofizyolojisinde rol oynayan etyolojik faktörleri anlamada yardımcı olabileceği bildirilmiştir (8).

Elde edilen 205.5; 190-199; 140-144; 102-104; 62-64; 39-40 ve ≤10 kDa bandların ishali buzağılarda arthritis göstergesi olabileceği ve bu nedenle tanı ve prognoz yönünden önemli olabileceği söylenebilir. Daha önceden, 39-40 kDa protein bandının "Whey proteinler"den bir glikoprotein olduğu, insanlarda eklem kondrositleri tarafından salgılandığı ve eklem hastalıklarının bir

belirtici olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (12). Sinovyal sıvı proteinlerinin kompozisyonu dolaşım sistemi ve eklem kıkırdağını etkileyen patofizyolojik durumları yansıtabilir (26).

Sonuç olarak; eklem sıvısında 205.5; 199-190; 144-140; 104-102; 64-62; 40-39 ve  $\leq 10$  kDa protein bandlarının ishali buzağılarda eklem bozukluğunun patofizyolojisinde rol oynayan etyolojik faktörlerin anlaşılmasında yardımcı olabileceği, bu nedenle de Veteriner klinikte diagnostik ve prognostik yönden önemli olabileceği kanısına varılmıştır.

### Kaynaklar

- Altıntaş A, Karagül H, Fidancı UR, Uysal H, Beşaltı Ö, Pekcan M, Aypak SÜ, Çiftci G, Bilgihan S, Hanedan B (2010). *Hyaluronic Acid Levels and Physical Characteristics of Synovial Fluid in Healthy and Diarrheic Calves with Arthritis*. Turkish Journal of Biochemistry, **35** (1): 14 - 19.
- Anonim (-). <http://www.physiologicalvaluesforall.com>. Erişim Tarihi: 19.02.2007.
- Anonim (2007): *Comprehensive List Of Procedures*. <http://www.labcorp.com/datasets/labcorp/html/chapter/mo-no/pr009500.htm>. Copyright © 2007 by Laboratory Corporation of America® Holdings and Lexi-Comp Inc.
- Bailey MJ, Lacey DC, de Kok BV, Veith PD, Reynolds EC, Hamilton JA (2010): *Extracellular proteomes of M-CSF (CSF-1) and GM-CSF-dependent macrophages*. Immunol Cell Biol. Jul 27 (E-basım).
- Brenner J, Elad D, Markovics A and Trainin Z (1993): *Epidemiological study of neonatal calf diarrhoea in Israel-A one year survey of fecal samples*. Isr. J. Vet. Med. **48**: 113-116.
- Brenner J, David D, Bernstein M and Elad D. (1998). *Description of an episode of multifocal polyarthritis of unknown aetiology in Newborn Calves*. J. Vet. Med. B, **52**(2):98.
- Cherniakova IuM, Pinchuk LS (2009): *Molecular mass distribution of proteins in serum and synovial fluid*. Klin Lab Diagn. 12: 8-11.
- Fujimura K, Segami N, Yoshitake Y, Tsuruoka N, Kaneyama K, Sato J, Kobayashi S (2005): *Electrophoretic separation of the synovial fluid proteins in patients with temporomandibular joint disorders*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Apr; **101**(4):463-8. Epub 2005 Oct 14.
- Gibson DS, Finnegan S, Jordan G, Scaife C, Brockbank S, Curry J, McAllister C, Pennington S, Dunn M, Rooney ME (2009): *Stratification and monitoring of juvenile idiopathic arthritis patients by synovial proteome analysis*. J Proteome Res. **8** (12):5601-9.
- González-Buitrago JM, Ferreira L, Muñiz MC (2008): *Clinical proteomics and new biomarkers in biological fluids*. Med Clin (Barc). 4, **131** (11):426-34.
- Hain NA, Stuhlmüller B, Hahn GR, Kalden JR, Deutzmann R and Burmester GR (1996): *Biochemical characterization and microsequencing of a 205-kDa synovial protein stimulatory for T cells and reactive with rheumatoid factor containing sera*. The Journal of Immunology, **157** (4): 1773-1780.
- Harvey S, Weisman M, O'Dell J, Scott T, Krusemeier M, Visor J, Swindlehurst C (1998): *Enzymes and Protein Markers. Chondrex: new marker of joint disease*. Clinical Chemistry. 1998; **44**:509-516.
- Hewicker-Trautwein M, Peters M, Gruber A, Baum B, Liverköhne I, Buchenau I, Kleinschmidt S (2003): *Bronchopneumonia and polyarthritis due to Mycoplasma bovis in a calf*. Dtsch Tierarztl Wochenschr. **110** (4):147-150.
- HSI (1993): *Hoeffer Scientific Instruments. Hoeffer Protein electrophoresis Applications Guide*. San Francisco USA.
- Ježek J, Klopčič M and Klínkon M (2006). *Influence of age on biochemical parameters in calves*. Bull Vet Inst Pulawy **50**, 211-214.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000): *Klinik Biyokimya*. Medisan Yayınevi. Yayın Serisi: 45. 1. Baskı-Ankara.
- Kinloch A, Lundberg K, Wait R, Wegner N, Lim NH, Zendman AJ, Saxne T, Malmström V, Venables PJ (2008): *Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis*. Arthritis Rheum. **58** (8): 2287-2295.
- Li TW, Zheng BR, Huang ZX, Lin Q, Zhao LK, Liao ZT, Zhao JJ, Lin ZM, Gu JR (2010): *Screening disease-associated proteins from sera of patients with rheumatoid arthritis: a comparative proteomic study*. Chin Med J (Engl). **5**; **123** (5): 537-543.
- Lipowitz AJ (1985): *Synovial Fluid*. Alınmıştır: Textbook of Small Animal Orthopaedics, CD Newton and DM Nunamaker (Eds). 1985.
- Nyrkos P and Golds E.E (1990): *Human synovial cells secrete a 39 kDa protein similar to a bovine mammary protein expressed during the non-lactating period*. Biochem J. **268**, 265-268.
- Rosenkranz ME, Wilson DC, Marinov AD, Decewicz A, Grof-Tisza P, Kirchner D, Giles B, Reynolds PR, Liebman MN, Kolli VS, Thompson SD, Hirsch R (2010): *Synovial fluid proteins differentiate between the subtypes of juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum. **62** (6): 1813-23.
- Smith BP (1996): *Large Animal Internal Medicine. Diseases of Horses, Cattle, Sheep and Goats*. Second edition. pp. 403, St. Louis, Mosby-Year Book, Inc.
- Svensson C, Jensen MB (2007): *Short communication: Identification of diseased calves by use of data from automatic milk feeders*. J Dairy Sci. **90** (2): 994-997.
- Şahal M, Kurtdede A, Börkür K, Ünsüren H, İmren HY, Özlem MB, Kalınbacak A (1994): *Yeni doğan ishali buzağuların klinik bulguları ve asit baz dengesi dikkate alınarak sodyum bikarbonat ve elektrolitik sıvılarla sağaltımı*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **41**: 599-625.
- Uchida T, Fukawa A, Uchida M, Fujita K, and Saito K (2002): *Application of a Novel Protein Biochip Technology for detection and identification of Rheumatoid Arthritis Biomarkers in Synovial Fluid*. Journal of Proteome Research, **1** (6): 495-499.
- Yamagiwa H, Sarkar G, Charlesworth MC, McCormick DJ, Bolander ME (2003): *Two-dimensional gel electrophoresis of synovial fluid: method for detecting candidate protein markers for osteoarthritis*. J Orthop Sci, **8** (4): 482-490.

Geliş tarihi: 25.01.2011 / Kabul tarihi: 20.01.2012

### Yazışma adresi:

Prof. Dr. Arif Altıntaş

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Biyokimya AD, 06110 Ankara

E-posta: altintas@veterinary.ankara.edu.tr