



Polifarmaziye Maruz Kalan Buzağlarda İntestinal Mukozal Hasarlanma Mevcut Mu? Polifarmaziye Maruz Buzağlarda İntestinal Hasar

Deniz ALIÇ URAL¹ ✉

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sultanhisar Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Aydın/Türkiye

◆ Geliş Tarihi/Received: 25.02.2025

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 19.03.2025

◆ Yayın Tarihi/Published: 30.06.2025

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Aliç Ural D. Polifarmaziye Maruz Kalan Buzağlarda İntestinal Mukozal Hasarlanma Mevcut Mu?

Polifarmaziye Maruz Buzağlarda İntestinal Hasar. Bozok Vet Sci (2025) 6, (1):22-25.

Özet: Bu saha araştırması retrospektif olarak planlanarak, Aydın'da il ya da ilçe sınırlarında farklı işletmelere ait 59 buzağda gerçekleştirildi. Araştırma kapsamında yer alan her buzağı, ishal (Grup I; n=20) ve/veya pnömoni (Grup II; n=20) nedeniyle birden fazla ilaç ile sağaltıma tabi tutulmuş olanlar arasından seçildi. Başlangıç kriteri olarak en az bir haftadır çoklu ilaç uygulamasında bulunanlar dahil edildi. Karşılaştırmalı olarak sağlıklı 19 diğer buzağı da kontrol grubu (III) olarak çalışmada yer buldu. Her buzağda uzman veteriner hekim tarafından elde edilen kan örneklerinden santrifüj sonrası serum çıkartılarak dondurucuda muhafaza edildi. Ticari Bovine Diamin Oksidaz (DAO) ELISA testleri aracılığıyla rekabetçi enzim immünoassay tekniği vasıtasıyla serum DAO değerleri saptandı. Sırası ile Grup I, II ve III'te ortalama±standart hata DAO (ng/mL) değerleri $8,22 \pm 2,02$, $11,44 \pm 1,96$ ve $28,90 \pm 3,59$ ($p < 0.001$) olarak tespit edildi. Sonuç olarak polifarmaziye en az 1 hafta maruz kalan ishaller ve/veya pnömonili buzağlarda intestinal mukozal hasarlanma gelişebileceği, bunun da sağlıklı kontrollere göre azalan DAO seviyeleri ile tespit edilebileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Diamin Oksidaz, İntestinal Mukozal Hasar, Polifarmazi

Is There Intestinal Mucosal Damage in Calves Exposed to Polypharmacy? Intestinal Damage in Calves Exposed to Polypharmacy

Abstract: This field study was planned retrospectively and was carried out on 59 calves belonging to different farms within the provincial or district borders of Aydın. Each calf included in the study was selected among those who had been subjected to treatment with more than one drug due to diarrhea (Group I; n=20) and/or pneumonia (Group II; n=20). As an initial criterion, those which had been treated with multiple drugs for at least one week were included. Nineteen other healthy calves were included in the study as the control group (III) for comparison. After centrifugation, serum was extracted from the blood samples obtained from each calf by specialist veterinarians and stored in the freezer. After centrifugation, serum was extracted from the blood samples obtained from each calf by a specialist veterinarian and stored in the freezer. Serum DAO values were determined by means of competitive enzyme immunoassay technique via commercial Bovine Diamine Oxidase (DAO) ELISA tests. The mean±standard error DAO (ng/mL) values were determined as 8.22 ± 2.02 , 11.44 ± 1.96 and 28.90 ± 3.59 ($p < 0.001$) in Groups I, II and III, respectively. As a result, it could be suggested that intestinal mucosal damage may develop in calves with diarrhea and/or pneumonia exposed to polypharmacy for at least 1 week, and this can be detected by decreased DAO levels compared to healthy controls.

Keywords: Calf, Diamine Oxidase, Intestinal Mucosal Damage, Polypharmacy

1. Giriş

Polifarmazi herhangi bir canlıda (bireyde ya da hayvanda) uygun olmayan, tekrarlayan kullanımla çoklu ilaca maruz kalmayı tanımlayabilir. İnsanlarda kullanılan tanımlamadan farklı olarak (tek bir hastada tekrarlayan kullanımda 6'dan fazla ilaç verilmesi), isteğe bağlı rakam verilmesi (" $>n$ ") hayvan modellemelerinde uygun görülmemektedir (1). Bunun yerine bir başka makalede (2) tanımlama değiştirilerek; bir canlıda tıbbi ihtiyacın ötesinde birden çok ilacın tekrarlayan kullanımı olarak belirtilmiştir ki bu durum hayvan refahını da bozmaktadır. Genel prensip olarak kullanılan her fazla ilaç, yan etki riskini arttırdığı gibi ilaç-ilac etkileşimi açısından da olumsuzluklara sebebiyet verebilmektedir.

Diamin oksidaz (DAO), enterositleri histamine karşı korumak için ince bağırsağın mukozasında üretilen baskın bir anti-histamin hücre içi enzimdir (3). DAO, bağırsak mekanik bariyerinin bütünlüğünü ve mukozal villus hasarının derecesini değerlendirmek için kullanılan ana indekstir (4). DAO, özellikle yüksek aktiviteye sahip olgun villöz hücrelerin apikal ucunda bulunur ve aktivitesi, ince bağırsak mukozasının bütünlüğünü ve olgunluğunu yansıtır (5). Mukozal hasar veya bağırsak duvarının gelişmemiş bütünlüğü durumunda, DAO jejunal villus uçlarından sistemik dolaşıma sızar (6). Kandaki DAO enzimi seviyeleri bağırsak geçirgenliğinin biyolojik belirteci olarak kullanılabilir (7). İlâveten ince bağırsak mukozal hasarı, DAO aktivitesini azaltabilir (7). Yükselen DAO serum

seviyeleri ve azalan DAO aktivitesi, artan bağırsak geçirgenliği ve dolayısıyla daha düşük bağırsak gelişimi ile ilişkilendirilmektedir (7,8). Bu çalışmada Aydın sınırları içerisinde yer alan farklı işletmelerden 59 buzağıda ishale ve/veya pnömoniye ilişkin olarak en az 1 hafta polifarmaziye maruz kalan buzağılarda intestinal mukozal hasarlanmanın tespiti amaçlandı.

2. Materyal ve Metot

2.1. Coğrafik Lokasyon ve Demografik Kısmi Veriler

Merkez il Aydın ve civar ilçelerde gerçekleştirilen bu saha çalışması retrospektif olarak planlanmış, toplamda 59 buzağı kapsama alınmıştır. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu [HADYEK] belgesi 27/10/2021 tarihli, no: 64583101/2021/146 dahilinde her buzağı sahibinden de ayrı ayrı yazılı onam formları alınarak buzağılar çalışmaya dahil edilmişlerdir.

2.2. Gruplara Tasnifleme

Çalışma kapsamına alınan her buzağı, yukarıda da sözü edildiği üzere merkez dahilinde farklı bölgelerden dahil edildi. İshalli buzağılar (Grup I; n=20 ve/veya pnömonili olanlar Grup II; n=20) hasta grupları teşekkül ederken sağlıklı 19 diğer buzağı da kontrol grubu (III) olarak çalışmada yer buldu.

2.3. Dahil Edilme Kriterleri

Buzağılar ishal ve/veya pnömoni nedeniyle birden fazla ilaç ile sağaltım denemesine tabi tutulmuş olanlar arasından seçildi. Başlangıç kriteri olarak en az bir haftadır çoklu ilaç (ishal için oksitetrasiklin, neomisin, enrofloksasin, streptomisin, sülfamezatin; pnömoni için enrofloksasin, oksitetrasiklin, streptomisin, trimetoprim) uygulamasında bulunulanlar dahil edildi. Karşılaştırmalı olarak herhangi bir ilaç uygulanmamış sağlıklı olanlar kontrol grubu olarak tutuldu. Dahil edilen tüm buzağılar Holstein ırkı idi.

2.4. Laboratuvar Akış Şemasına Ait Kesit

Dahil edilen buzağıların tamamında yukarıda sözü edilen 1'er ml kan örneğini *V. jugularis* aracılığıyla temin ederek hızlıca laboratuvar işlemlerine alınmak üzere soğuk zincirde sevk edildi. Laboratuvarda santrifüj sonrası serum örnekleri, analiz gerçekleştirilene kadar Eppendorf tüplerine ayrılarak -80 °C dondurucuda saklandı. Daha sonra, Bovine Diamin Oksidaz ELISA testi ile örneklerin analizi yapıldı. DAO ELISA kiti (My Biosource), rekabetçi enzim immünoassay tekniğini temel alan bir testtir. Bu yöntemde, poliklonal anti-DAO antikor ve DAO-HRP konjugatı kullanıldı. Ölçüm aralığı 0,312 ng/ml ile 20 ng/ml arasındaydı. Serum numuneleri ve tampon, önceden kaplanmış plakalara eklenerek DAO-HRP konjugatı ile bir saat boyunca inkübe edildi. Kuluçka süresinin ardından, kuyucuklar boşaltıldı ve beş kez yıkandı. Sonrasında kuyucuklar, HRP enzimi için bir substrat ile

inkübe edildi. Enzim-substrat reaksiyonu, mavi renkli bir kompleksin oluşmasına yol açmaktadır. Reaksiyonu durdurmak için bir durdurma solüsyonu eklendi, bu da mavi renkli enzim-substrat kompleksini sarıya dönüştürmektedir. Rengin yoğunluğu, spektrofotometrik olarak 450 nm'de bir mikropilaka okuyucuda ölçüldü. Sandwich ELISA metodolojisine ilişkin herhangi bir analitik hata şekillenmedi. Buzağı serumları hatasızca incelenebildi. Analizler RDA Grup, Tekstilkentte İstanbul'da gerçekleştirilebildi. Ortalama DAO (ng/mL) değerleri karşılaştırmalı şekilde tablo 1'de sunuldu.

Tablo 1. Polifarmaziye maruz kalan buzağılarda DAO düzeyleri

	Grup I	Grup II	Grup III
	Polifarmazi	Polifarmazi	Kontrol
	(İshalli	(Pnömonili	(Sağlıklı
	buzağılar)	buzağılar)	buzağılar)
DAO	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
(ng/mL)	8,22 ± 2,02 ^a	11,44 ± 1,96	28,90 ± 3,59 ^b

^{a,b}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır.

2.5. İstatistiksel Analizler

Tanımlayıcı istatistikler elde edilen tüm verilere uygulandı. Veri akışında ortalama ve standart hata belirlendi. Her 3 grupta serum DAO seviyelerine ait değişim analizinde Kruskal Wallis ANOVA testi ile sıralamaya dayalı nonparametrik metodoloji tercih edildi. İstatistiksel analizler Graphpad Prism Software (v. 9.2, Amerika) ile gerçekleştirildi. P değeri =0.05 olarak kullanıldı.

3. Bulgular

3.1. Demografik Veriler

Dahil edilen buzağılarda gruplara dağılım açısından; grup I'de 19-38 günlük yaşta 11 dişi, 9 erkek, grup II'de 13-30 günlük yaşta 14 dişi, 6 erkek buzağı yer alırken, sağlıklı kontrollerin yer aldığı grup III'te 15-44 günlük yaşlarda 16 dişi, 3 erkek buzağı yer aldı.

Elde edilen verilere ait analizlerle sonuçlar tablo 1'de sunuldu. Polifarmaziye maruz kalan buzağılarda DAO düzeylerinin ortalama (ng/mL) ve standart sapma değerleri; ishalli buzağılarda 8,22±2,02 ve pnömonili buzağılarda 11,44±1,96 olarak belirlenirken sağlıklı buzağılarda 28,90±3,59 olarak saptandı.

4. Tartışma

Yürütülen bir başka çalışmada antibiyotik tedavisine maruz kalan ve gastroenterolojik ya da solunum sistemi problemi mevcut 20 hasta buzağıda, karşılaştırmalı olarak 10 diğer

sağlıklı buzağıya kıyasla serum DAO aktivitesi ölçülmüştür. İlgili çalışmada ng/mL cinsinden DAO seviyeleri ortalama 5,552 olarak belirlenirken, sağlıklı kontrollerde 16,48 olarak görülmüştür (9). Bu çalışmada sadece antibakteriyel uygulamalar değil, polifarmaziye maruz kalan buzağılar araştırılmıştır.

DAO, bir enzim olarak diaminlerden histamin, putresin ve kadaverin'in oksidasyonunu katalize etmektedir (10). İnsan ve rodentlerde, DAO spesifik olarak olgunlaşmış villöz hücrelerin apikal uç kısımlarında yerleşerek, yüksek aktivite göstermektedir. Son sözü edilen aktivite ince bağırsakta, bütünlük ve olgunlaşmayı yansıtmaktadır. İnsanlar ve hayvanlarda gerçekleştirilen pek çok çalışma ile DAO aktivitesinin ince bağırsakta permeabilite artışı ile ters korelasyon içerisinde olduğunu göstermektedir (11,12). Bu çalışma buzağılarda intestinal mukozal hasarlanmanın tespitinde mihenk taşı olabilecek niteliğe haizdir.

İshalli buzağının dışkı kıvamı ve kan pH'sına dayalı olarak sınıflandırıldığı bir çalışmada (13), şiddetli veya orta derecede ishallerli buzağılarda kontrol grubuna göre; şiddetli grupta da orta dereceli gruba göre plazma DAO aktivitesinin anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Quanz (14), disbiyoz belirteçleriyle çakışan klinik belirtilerin çalışma grubundaki ineklerde gastrointestinal distrese işaret ettiği haftalarda plazma DAO aktivitesinin açıkça azaldığını bildirmektedir. Erken patojenik *Escherichia coli* (*E.coli*) enfeksiyonunun yeni doğan buzağının bağırsak bariyeri ve bağışıklık fonksiyonu üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada (15); artan DAO ve IL-6 seviyeleri gösterilmektedir. Önceki bir çalışmada Aydın İlinde yer alan 71 buzağıdan 3 farklı çiftlikte yapılan incelemeye göre gerek enfeksiyöz gerekse non-enfeksiyöz ishallerli buzağılarla karşılaştırmalı olarak sağlıklı kontrol buzağılarda DAO (ng/mL) ölçümleri sırası ile ortalama±standart hata bağlamında $6,52 \pm 2,85$, $7,16 \pm 3,40$ ve $17,05 \pm 2,63$ ($p < 0,001$) olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler ilgili enzimin tanısallık manada yarar sağlayabileceğini ve muhtemel intestinal mukozal hasarlanmanın ishallerle paralel olarak geliştiğini gösterebilir (16).

Önceki bir çalışmada 22 ishallerli Japon Siyah Buzağısı eşit gruplara bölünerek probiyotik yada antibiyotiğe maruz bırakılmıştır. Sekiz günlük sağaltım dahilinde serum DAO aktivitesi sadece probiyotik alan buzağılarda belirgin şekilde artmış (1. günde $64,4 \pm 7,2$ 'ye karşın 8. günde $76,3 \pm 5,1$ IU/ml), elde edilen sonuçları probiyotiklerin serum DAO aktivitesi üzerine ishallerli buzağılarda etkin olduğuna işaret etmiştir (13). Yurdumuzda gerçekleştirilen mühim bir çalışmada ishallerli buzağılara rektal yolla çoklu suş probiyotik sağaltımı uygulanmış; ortalama DAO seviyeleri (ng/mL) açısından sırası ile önce ve sonra değerleri $8,48 \pm 1,67$ 'e karşın $28,06 \pm 3,51$, olarak istatistiksel öneme haiz ($p < 0,001$) değişimlerle saptanmıştır. İlgili çalışma sonuçlarına göre ishallerle bağlantılı olarak intestinal mukozal hasarlanma

gelişebileceği, ardışık olarak plazma DAO aktivitesinin artacağı öne sürülmüştür. Bununla beraber 10 günlük rektal enema probiyotik sağaltımının bu durumu tersine çevirdiği; orantılı geri bildirim regülasyonu ile mukozal iyileşmenin sağlandığı düşünülmüştür (17).

5. Sonuç

Mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenine dair buzağılarda herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olması burada yazılan ilgili çalışmayı daha da etkin kılabilir. Şöyle ki sıklıkla kullanılan bazı antibiyotikler (sefuroksim, sefotiam, izoniazid, pentamidin, klavulanik asit, klorokin], mukolitikler (asetilsistein, ambroksol vb.), bronkolitikler (aminodfilin), H2 reseptör antagonistleri (simetidin vb.) DAO ile etkileşime girmektedir (18). Bu ilaçların önemli bir kısmının buzağılarda tüm dünyada aktif olarak kullanılması DAO ile etkileşimin canlı tür düzeyinde iyice irdelenmesi ve gerekli sonuçların çıkarılarak ilgili sağaltım protokollerinin düzenlenmesi anlamına gelebilir. Nitekim bu çalışmada polifarmazi uygulanan buzağılarda azalan DAO seviyeleri buna işaret etmektedir. Polifarmazi intestinal mukozal hasara ilişkin olabileceğinden, ilaç yan etkilerine maruziyetin azaltılması açısından bu çalışmanın sonuçları dikkatle irdelenmelidir.

Kaynaklar

1. Payne RA. The epidemiology of polypharmacy. Clinical Medicine 2016; 16: 465–469. doi: 10.7861/clinmedicine.16-5-465.
2. Hunter RP, Isaza R. Polypharmacy in zoological medicine. Pharmaceutics 2017; 9(1): 10. doi: 10.3390/pharmaceutics9010010.
3. Kovacova-Hanusova E, Buday T, Gavliakova S, Plevkova J. Histamine, histamine intoxication and intolerance. Allergologia et Immunopathologia 2015; 43(5): 498–506. doi: 10.1016/j.aller.2015.05.001.
4. Fukudome I, Kobayashi M, Dabanaka K, Maeda H, Okamoto K et al. Diamine oxidase as a marker of intestinal mucosal injury and the effect of soluble dietary fiber on gastrointestinal tract toxicity after intravenous 5-fluorouracil treatment in rats. Medical Molecular Morphology 2014; 47: 100–107. doi: 10.1007/s00795-013-0060-0.
5. Honzawa Y, Nakase H, Matsuura M, Chiba T. Clinical significance of serum diamine oxidase activity in inflammatory bowel disease: importance of evaluation of small intestinal permeability. Inflammatory Bowel Diseases 2011; 17(2): E23–E25. doi: 10.1002/ibd.21401.
6. Zhang L, Zhang L, Zhan XA, Zeng X, Zhou L et al. Effects of dietary supplementation of probiotic, Clostridium butyricum, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. Journal of Animal Science and Biotechnology 2016; 7(1): 3. doi: 10.1186/s40104-015-0038-9.
7. Alizadeh A, Akbari P, Garssen J, Fink-Gremmels J, Braber S. Epithelial integrity, junctional complexes, and biomarkers associated with intestinal functions. Tissue Barriers 2022; 10(3): 1996830. doi: 10.1080/21688370.2021.1996830.

8. Song Z, Cheng K, Zhang L, Wang T. Dietary supplementation of enzymatically treated *Artemisia annua* could alleviate the intestinal inflammatory response in heat-stressed broilers. *Journal of Thermal Biology* 2017; 69: 184–190. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.07.003.
9. Aliç Ural D. Investigation of diamine oxidase as a biomarker of intestinal mucosal injury in calves exposed to antibacterial treatment. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques* 2024; 9(3): 190–196.
10. Shakir KM, Margolis S, Baylin SB. Localization of histaminase (diamine oxidase) in rat small intestinal mucosa: site of release by heparin. *Biochemical Pharmacology* 1977; 26: 2343–2347.
11. Ayuso P, Garcia-Martin E, Martinez C, Agundez JA. Genetic variability of human diamine oxidase: occurrence of three nonsynonymous polymorphisms and study of their effect on serum enzyme activity. *Pharmacogenetics and Genomics* 2007; 17: 687–693.
12. Palacios NL, Agundez JA, Diaz-Rubio M, Ayuso P. Analysis of a non-synonymous single nucleotide polymorphism of the human diamine oxidase gene (ref. SNP ID: rs1049793) in patients with Crohn's disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2009; 44(9): 1041–1045. doi: 10.1080/00365520903075897.
13. Fukuda T, Tsukano K, Nakatsuji H, Suzuki K. Plasma diamine oxidase activity decline with diarrhea severity in calves indicating systemic dysfunction related to intestinal mucosal damage. *Research in Veterinary Science* 2019; 126: 127–130. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.08.004.
14. Quanz S. Dietary interventions to modulate gut function in ruminants. Doctoral dissertation, 2022.
15. He L, Wang C, Simujide H, Aricha H, Zhang J et al. Effect of early pathogenic *Escherichia coli* infection on the intestinal barrier and immune function in newborn calves. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2022; 12: 818276. doi: 10.3389/fcimb.2022.818276.
16. Aliç Ural D. Intestinal mucosal damage and intestinal permeability in non-infectious and infectious diarrheic calves in relation to diamine oxidase activity. *International Journal of Veterinary and Animal Research* 2024; 7(3): 83–86.
17. Aliç Ural D, Erdoğan S, Kılıç N, Erdoğan H, Turk E et al. Probiotic enema protects intestinal mucosae and decreases plasma diamine oxidase activity among calves with diarrhea. *Veterinaria* 2023; 72(3): 283–289.
18. Maintz L, Novak N. Histamine and histamine intolerance. *American Journal of Clinical Nutrition* 2007; 85(5): 1185–1196. doi: 10.1093/ajcn/85.5.1185.