

Sığırların leptospirozisinde serum sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeyleri üzerine araştırma

İhsan KELEŞ¹ Ali ERTEKİN² Mehmet KARACA¹ Suat EKİN² Hasan Altan AKKAN¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı-VAN

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı-VAN

ÖZET

Bu çalışmada, 11'i leptospirozisli, 10'u leptospirozisten şüpheli, 10 tanesi ise sağlıklı olan 6-12 aylık sığırlar kullanıldı. Leptospirozisli hayvanların serum sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeylerinde leptospirozisten şüpheli ve kontrol hayvanlara kıyasla istatistiki olarak önemli artışlar ($p < 0.001$) saptandı. Bu artışların eritrosit membranlarında leptospiralar tarafından salgılanan toksinlere bağlı olarak oluşan dejenerasyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Hücre membranının henüz etkilenmediği leptospirozisten şüpheli vakalarda ise sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeylerinde herhangi bir artış saptanmadı.

Anahtar kelimeler: Leptospirozis, sialik asit, lipid-bağlı sialik asit, sığır

Studies on serum sialic acid and lipid-bound sialic acid in cattle with leptospirosis

SUMMARY

In the present study, 11 cattle with leptospirosis, 10 cattle suspected with leptospirosis and 10 healthy cattle aged between 6-12 months were used. Serum sialic acid and lipid-bound sialic acid concentrations were found to be increased significantly ($p < 0.001$) compared to the values obtained from control and leptospirosis suspected cattle. Increase in these values are thought to be direct effect of toxins on cell membranes released from leptospirae spp. Important changes in sialic acid and lipid-bound sialic acid concentration were not observed in the serum samples obtained from leptospirosis suspected animals. This is because erythrocyte membranes may not had been effected by the toxins.

Key Words: Leptospirosis, sialic acid, lipid-bound sialic acid, cattle.

GİRİŞ

Leptospirozis bütün hayvanlarda görülen zoonoz bir hastalıktır. Septisemi, intersitisyel nefritis, hemolitik anemi, hemoglobüri, ikterus, organlarda kanamalar, gebelerde abortus, sentral sinir sistemi bozuklukları, deri ve mukozalarda nekroz ile karakterizedir (1,13).

Leptospira etkenleri organizmaya mukoz membranlar veya hasarlı deriden direkt veya indirekt temasla geçerler. Organizmaya girdikten sonra 4-5 gün içinde süratle ve fazla miktarda çoğalırlar. Etkenler bu süre içinde en çok kanda dolaşırlar. Eritrositler içinde çoğalan bu etkenler, çıkardıkları hemotoksinlerle eritrositleri parçalayarak anemi ve hemoglobüriye neden olmaktadır. Buna bağlı olarak hayvanlarda ikterus tablosu ortaya çıkar. Daha sonra toksik parçalanma ürünlerinin damar çeperini dejenere ederek çeşitli kanama odaklarına ve mukozaya nekrozlarına yol açtığı bildirilmektedir (1,12).

Sialik asitler biyolojik membranların önemli yapılarından biridir ve glikolipidlerin, glikoproteinlerin, polisakkaritlerin ve mukoproteinlerin yapısına girerek, bakterilerde ve hayvan dokularında yaygın bir şekilde bulunurlar (5,2,4). Taşıdıkları negatif yük nedeni ile hücre agregasyonunu önlerken membran gerginliğini de sağlarlar (3,10).

Memelilerin çoğunda sialik asitler N-asetil ve N-glikolil türevleri şeklindedir (15). Eritrositlerin fizyolojik pH'da görülen negatif yüklerinin büyük ölçüde hücrelerin yüzeyinde bulunan glikoproteinlerin yapısındaki sialik asit kalıntılarından ileri geldiği ve glikoproteinlerin kapillar membran Permeabilitesi, glomeruler filtrasyonun normal seyri, eritrositlerin viruslar tarafından hemaglutinasyonunun inhibisyonu gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlarında sialik asitlerle beraberliğinin zorunlu olduğu bildirilmektedir (2,14).

Çeşitli faktörlere bağlı olarak (viruslar, mikroorganizmalar) eritrositlerde meydana gelen yıkımların neticesinde yüzeylerindeki glikoproteinlere bağlı olan sialik asitler ser-

best bırakılırlar ve sialik asitlerini kaybeden bu eritrositler retikuloendotelial (RES) sistemde kolayca fagosite edilirler (2,6).

Bu çalışma, eritrositlerin deformasyonu sonucu serum düzeylerinde artış olduğu bildirilen sialik asitlerin, salgılandıkları toksinlerle eritrositlerin parçalanmasına neden olan sığırların leptospirozisinde bu asitlerin düzeylerinde herhangi bir değişiklik olup olmadığını ortaya koymak amacıyla yapıldı.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada toplam 6-12 aylık 31 adet sığır materyali kullanılmış olup, materyaller kan işeme şikayeti ile başvuru olan iki sığır sürüsünden temin edilmiştir. Bu sürülerde ölümlerin olduğu bildirilmiş olup, ölen iki hayvanın histopatolojileri de yapılmıştır (17). Bu hayvanların histopatolojik muayenelerinde immunohistokimya bulguları leptospirozis yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca hemoglobüri hayvanlardan alınan idrar örneklerinin karanlık saha metodu ile (12) incelenmesi sonucunda spiroket görünümü etkenler mikroskopik olarak saptanmıştır.

Otuzbir adet sığırdan antikoagülanlı ve antikoagülanlı kan örnekleri alındı. Antikoagülanlı kan örneklerinde mikrohematokrit değerleri ile total lökosit değerleri saptandı. Antikoagülanlı kan örneklerinden serum elde edilerek sialik asitlerin analizleri için -21°C 'de saklandı.

Kan alınan hayvanlardan sadece 11 tanesinde kan işeme semptomu mevcut olup hematokrit değerleri %8-20 (ortalama %15.20), total lökosit değerleri ise 11400-18700/ μl (ortalama 14160/ μl) arasında idi ve Grup 1'i oluşturdu. Grup 2' deki 10 hayvanda kan işeme olmayıp hematokrit değerleri normal sınırlar içinde, % 22-35 (ort.% 29.44), sadece total lökosit değerlerinde artış ortalama 12230/ μl ve klinikman halsizlik görüntüleri vardı. 10 adet olan kontrol grubu (Grup 3) hayvanlar tamamen sağlıklı bireylerden oluşturuldu.

Serum sialik asit analizleri Sydow' un metoduna göre (16), Lipid-bağlı sialik asit analizleri ise Katapodis ve ark. (11) metoduna göre kolorimetrik olarak spektrofotometrede (Perkin Elmer, Lambda) ölçüldü.

İstatistik analizler SPSS paket programı Tukey's testi ile yapıldı.

BULGULAR

Sialik asit ve Lipid-bağlı sialik asit değerleri Tablo 1' de verilmiştir. Buna göre sialik asit değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde Grup 1 değeri ile Grup 2 ve 3 arasında istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu ($p<0.001$) tespit edildi. Grup 2 ile 3 arasında ise önemli bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

Serum lipid-bağlı sialik asit değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde ise sialik aside benzer sonuçlar elde edildi. Buna göre de Grup 1 lipid-bağlı sialik asit değerlerinin Grup 2 ve 3 değerlerine kıyasla önemli bir artış gösterdiği gözlemlendi ($p<0.001$). Grup 2 ile 3 lipid-bağlı sialik asit değerleri arasında ise önemli bir farklılık istatistiksel olarak saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 1. Leptospirozisli, leptospirozisten şüpheli ve kontrol grubu sığırların sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeyleri

Parametreler	Grup 1 (n:11)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)
Sialik asit (mg/dl)	57.23±8.21	39.14±3.53	40.73±2.44
Lipid-bağlı sialik asit (mg/dl)	19.11±1.97	15.37±0.81	15.04±0.45

TARTIŞMA VE SONUÇ

Glikoproteinler içinde önemli yeri olan sialik asit ve lipid-bağlı sialik asidin bir çok patolojik durumda serum düzeylerinde artış olduğu bildirilmektedir (8,9).

Sialik asit ve lipid-bağlı sialik asitler bütün hayvanların hücre yüzeylerinde bulunurlar (15). Eritrosit hücre yüzeyinde de bulunmalarından dolayı eritrosit hücre yüzeyini etkileyen herhangi bir nedenin bu maddelerin serum düzeylerinde artışlarına neden olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, salgıladıkları toksinlerle eritrosit membranını parçalayarak intravasküler hemolize neden olduğu bildirilen (12) leptospirozisli sığırlarda bu maddelerin serum düzeylerinde herhangi bir artışın olup olmadığı araştırıldı.

Yapılan analizler sonucu sağlıklı hayvanlarda (Grup 3) serum sialik asit değerleri 40.73±2.44 mg/dl olarak tespit edildi. Leptospirozisin başlangıç evresinde olduğu tahmin edilen hayvanlarda (Grup 2) 39.14±3.53 mg/dl olarak bulunan sialik asit miktarı, leptospirozis tanısı konulan grupta (Grup 1) 57.23±8.21 mg/dl olarak saptandı.

Sağlıklı hayvanların bulunduğu grupta lipid-bağlı sialik asit düzeyleri 15.04±0.45 mg/dl olarak bulunurken, leptospirozisin erken evresindeki hayvanlarda bu değer 15.37±0.81 mg/dl, leptospirozisli hayvanlarda ise 19.11±1.97 mg/dl olarak tespit edildi.

Bu değerlere bakıldığında hemoglobini bulunan sığırlarda miktarların önemli derecede arttığı tespit edilirken, muhtemelen hastalığın başlangıç döneminde olduğu düşünülen ikinci grup hayvanlarda hücresel parçalanma ve dejenerasyonun olmaması nedeni ile önemli bir artış gözlenmedi.

Hemoglobini belirtisi görülen leptospirozisli hayvanların serum sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit artışlarının muhtemel kaynağının öncelikle eritrosit membranlarında

meydana gelen deformasyonlara (2) ve sialik asidi azalmış eritrositlerin makrofajlar tarafından fagosite edilmeye duyarlı olmaları ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (7).

Sonuç olarak eritrosit membranındaki dejenerasyon, parçalanma ve yapısal değişimlerin hücre membranında bulunan sialik asit ve lipid-bağlı sialik asidin serbest bırakılmasına ve serum düzeylerinde artışlara neden olduğu, ancak hücresel hasarın henüz oluşmadığı leptospirozisin erken döneminde bu maddelerin serum düzeylerinin etkilenmediği bu nedenle de erken tanıda yararlanılabilir bir parametre olmadığı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1.Alaçam E, Şahal M (1997): Sığır Hastalıkları. Medisan Yayınları, Ankara.
- 2.Altıntaş A, Kurtdele A, Fidancı UR, Borkü K (1989): Köpek gençlik hastalığında serum sialik asit ve protein düzeylerinin klinik önemi. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 36, 21: 154-164.
- 3.Bretscher MS (1973): Membrane structure: some general principles. Science, 181: 622-629.
- 4.Dain NGS, Rosenberg A (1976): Biological Roles of Sialic Acid. P. Press. New York, USA.
- 5.Ersoy E, Bayşu N (1986): Biyokimya XXV. A.Ü. Basımevi. Ankara.
- 6.Esievo KAN, Saror DI, İlemobade AA, Hallaway MH (1982): Variation in erythrocyte surface and free serum sialic acid concentration during experimental Trypanosoma vivax infection in cattle. Res. Vet. Sci. 32, 1: 1-5.
- 7.Esievo KAN, Saror DI, Kolo MN (1986): Erythrocyte surface sialic acid in Ndama and Zebu cattle. J. Comp. Pathol. 96: 95-97.
- 8.Gerbaut L, Rey E, Lombart C (1973): Improved automated determination of bound N-acetylneuraminic acid in serum. Clin. Chem. 19,11:1281-1287.
- 9.Jain NC (1993): Essential of Veterinary Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia, USA.
- 10.Jeanloz RV, Codrington JF (1976): In: Biological Roles of Sialic Acid (Rosenberg A and Schengrund CL eds.) pp: 201-237. P. Press New York, USA.
- 11.Katapodis N, Hirshaut Y, Geller NL, Stock C (1982): Lipid associated sialic acid test for the detection of human cancer. Cancer Research. 42: 5270-5275.
- 12.Quinn PJ, Carter M, Markey BK, Carter GR (1994): Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing, London, England.
- 13.Radostits OM, Blood DC, Gay CC (1995): Veterinary Medicine. Bailliere and Tindall, England.
- 14.Schauer R. (1982): Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. Adv. Carbohydrate. Chem. Bio-Chem. 40: 131-132.
- 15.Sherblom AP, Bharathan S, Hall PJ, Smagula RM (1988): Bovine serum sialic acid: age related changes in type and content. Int. J. Biochem. 20, 10: 1177-1183.
- 16.Sydow G (1985): A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. Biomed. Biochem. Acta. 44, 11-12: 1721-1723.
- 17.Yener Z, Keleş İ (2000): Sığırlarda leptospirozis olayları üzerinde klinik ve patolojik incelemeler. Vet. Bil. Derg. (Baskıda).