

Gebe keçilerde serum adenzin deaminaz aktiviteleri üzerine bir çalışma

Muhammet Alan Zahit Tefik Ağaoğlu Nuri Altuğ
Ahmet Uyar İbrahim Taşal

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada keçilerde gebeliğin çeşitli dönemlerinde ve doğumdan sonra serum adenzin deaminaz aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Materyal olarak 9 adet Siirt Keçisi kullanıldı. Keçilerden aşım sonrası 21., 40., 75., 100. ve 145. günlerde ve doğumdan 10 gün sonra kan alınarak serumları çıkartıldı. Serumlar aynı gün Yüzüncü Yıl Üniversitesi merkez laboratuvarında işlenerek adenzin deaminaz aktiviteleri IU/L cinsinden belirlendi.

Keçilerde doğum sonrasında daha yüksek elde edilen adenzin deaminaz aktivitesi gebelik dönemi ilerledikçe düşmüş ve doğuma en yakın zamanda en düşük aktivite elde edilmiştir. Yukarıdaki kan alma günlerinde sırasıyla elde edilen aktiviteler 5.6, 4.59, 3.96, 2.52, 1.54 ve 7.15 IU/L olmuştur. Doğum sonu ile gebeliğin 21., 40. 100. ve 145. günlerinde elde edilen adenzin deaminaz aktiviteleri istatistiki yönden de farklı çıkmıştır ($P < 0.001$).

Sonuç olarak, keçilerde gebelik döneminde serum adenzin deaminaz aktivitesinin önemli derecede düştüğü, bu düşüşün aşım sonrası 21. günden itibaren belirlenebileceği ve gebelik tanısında yararlı olabileceği ve gebeliğin ilerlemesine paralel olarak adenzin deaminaz düşüşlerinin sağlıklı bir gebeliğe işaret edebileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Keçi, Gebelik, Adenzin deaminaz.

A study on serum adenosine deaminase activities in pregnant goats

Abstract: The activities of adenosine deaminase in different periods of pregnancy and after parturition were investigated in 9 goats. Blood samples were collected at days 21, 40, 75, 100, 145 of pregnancy and at day 10 after parturition. Serums were harvested from these samples and adenosine deaminase levels were assayed as IU/L.

Adenosine deaminase activity was higher after parturition but lowed during pregnancy. The lowest activity was assayed nearest the term. Activities at the sampling times were 5.6, 4.59, 3.96, 2.52, 1.54 and 7.15 IU/L, respectively. Adenosine deaminase activities were different at days 21, 40, 100, 145 and after parturition ($P < 0.001$).

It was concluded that serum adenosine deaminase activities low importantly during pregnancy towards to term. Low level can be predicted as early as at day 21. This condition of this enzyme may be useful at pregnancy diagnosis and may be indicate normal pregnancies.

Key Words: Goat, Pregnancy, Adenosine deaminase.

GİRİŞ

Adenzin deaminaz (ADA) adenzini inozine dönüştüren bir enzimdir (1-4). En yüksek ADA aktivitesi lenfosit ve monositlerde bulunmaktadır (5). Sığırlarda serum adenzin deaminaz ölçümlerinin lenfositosis'e sebep olan subklinik olguların tespitinde löykozun bir belirleyicisi olarak veya gelişmesi kaçınılmaz olan sığır löykozunun belirlenmesinde yararlı olacağı ifade edilmiştir (4). Hayvanların çeşitli dokularındaki ADA dağılımları farklılık göstermektedir. Dalak ve duodenumda yüksek, kan,

beyin, kaslar, pankreas ve testislerde düşük enzim aktiviteleri bulunmuştur. Kedilerin plasentasında ve akciğerlerinde kısmen yüksek enzim aktivitesi ortaya konmuştur (2). Purin metabolizmasının immun sistemde önemli bir yeri bulunmaktadır. Kısaca SCID diye isimlendirilen ağır bileşik immun yetersizlik sorunlarının otozomal resesif tiplerinin % 50'sinde ADA eksikliği bildirilmiştir. Bu tür enzim eksikliğinin özel gen transferiyle tedavisinin uygun olduğu belirtilmiştir (6). Kedi, köpek, sığır, domuz, at ve rat içinde serum ADA seviyesi en yüksek olanı kediler olmuştur. Tavşanlarda orta düzeyde enzim aktivitesi

elde edilirken, köpek, sığır, domuz, kısırak ve ratlarda kısmen düşük seviyeler elde edilmiştir. Çeşitli hastalıklardan etkilenen hayvanların serum ADA seviyelerinin normal sınırları aştığı, iyi kondüsyondaki hayvanlarda ise sabit denebilecek değerlerin korunduğu belirlenmiştir. Bu özelliklerin veteriner hekimlikte tanıya yardımcı olabileceği bildirilmiştir (7). Gebe olmayan koyunlarda Ocak-Ekim aylarında yağ dokudaki ADA aktivitesinde önemli bir değişiklik olmadığı, laktasyonda ise bir yükselme görüldüğü, gebeliğin yağ dokudaki ADA aktivitesi üzerine belirli bir etkisinin bulunmadığı belirtilirken (8), sağlıklı ineklerde gebelikte serum ADA seviyelerinin düşük çıktığı ifade edilmiştir (9, 10).

Bu çalışma, keçilerde gebeliğin belli dönemlerinde ve doğumdan sonra serum adenzin deaminaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

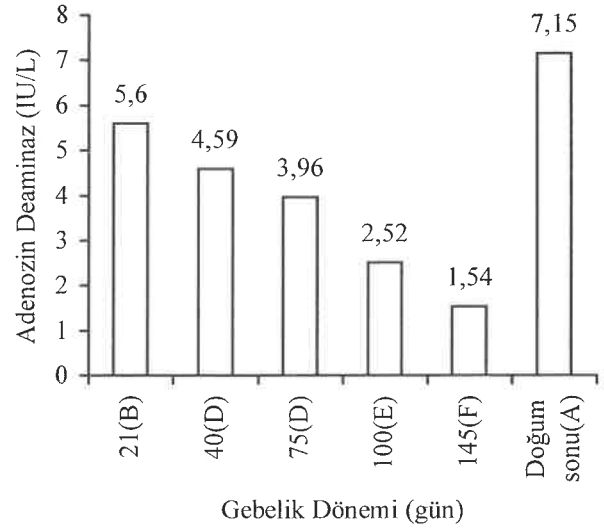
Materyal olarak 9 adet Siirt Keçisi kullanıldı. Keçilerden aşım sonrası 21., 40., 75., 100., 145. günlerde ve doğumdan 10 gün sonra kan alınarak serumları çıkartıldı. Serumlar aynı gün Yüzüncü Yıl Üniversitesi merkez laboratuvarında işlenerek adenzin deaminaz aktiviteyi IU/L cinsinden belirlendi. Adenzin deaminaz aktivitesi modifiye Bertholet reaksiyonu ile Martinek metoduna (11) göre kolorimetrik olarak tespit edildi. Adenzin deaminaz aktivite ölçümünün prensibini substrat olarak adenzin kullanılmasıyla açığa çıkan amonyağın alkali ortamda sodyumhipoklorit ve fenol ile reaksiyona girerek koyu mavi renkli indofenol şeklini alması oluşturdu. Amonyak konstantasyonunun değişimiyle orantılı olarak indofenol oluşumu da değişti. Bir ünite adenzin deaminaz aktivitesi 37 °C'de 60 dakika süreyle 1ml serumun amonyum nitrojeninin 1 mikrogramının serbest bırakılması olarak tanımlandı.

Bildirilen dönemlerde elde edilen adenzin deaminaz aktiviteyi karşılaştırıldı. İstatistik analizler Harvey Paket Programında (12) yapıldı. İki'den fazla grupları birbirleriyle karşılaştırmak için Duncon testi kullanıldı (13).

BULGULAR

Keçilerde doğum sonrasında elde edilen yüksek düzeydeki adenzin deaminaz aktivitesinin gebelik dönemi ilerledikçe düştüğü izlenmiş ve doğuma en yakın zamanda en düşük değerler elde edilmiştir. Aşımından sonra 21., 40., 75., 100. ve 145. günlerde ve doğumdan sonra elde edilen adenzin deaminaz

aktiviteyi Şekil 1'de, varyans analizleri ise Tablo 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Keçilerde gebeliğin 21., 40., 75., 100., 145. günlerinde ve doğumdan 10 gün sonra elde edilen serum adenzin deaminaz aktiviteyi. Ayrı harflerle işaretlenen günlere ait değerler birbirinden farklı (P< 0.001).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Farelerde ADA eksikliği olan fütüslerin bağlı oldukları plasentada da enzim eksikliği olmakta ve ağır purin metabolik rahatsızlık ve hepatosellüler bozukluk nedeniyle fütüsler ileri gelişim döneminde ölmektedirler (14). Genlerine müdahale edilerek ADA yetersiz hale getirilen fareler de perinatal olarak kaybedilmektedir. Böyle ADA eksikliği olan fütüslerin plasentalarına bir ADA geninin verilmesi ile perinatal ölümden kurtarılabilirdikleri bildirilmiştir (15). Potent ve dönüşümsüz bir ADA inhibitörü olan 2'-deoxycoformycin'in gebeliğin 7. veya 8. günlerinde verilmesini takiben implantasyon bölgesi rezorbsiyon sahalarının belirgin olarak arttığı ifade edilmiş, antimezometrial decidua'nın, endojen ADA substratlarının implantasyon bölgesinde zararlı şekilde birikmesini önlemede koruyucu rol oynadığı belirtilmiştir (16). Trofoblast hücreleri implantasyon ve plasentasyon sürecinde önemli rol oynamaktadırlar (17). ADA, chorioallantoic plasentanın trofoblast hücrelerinde yoğunlaşmakta, embriyonik ve fetal gelişim için esas teşkil etmektedir (18). Erken postimplantasyon dönem boyunca hem maternal olarak elde edilen decidual hücrelerde hem de zigottan elde edilen trofoblast hücrelerde yüksek düzeyde ADA görülmektedir. Gebeliğin erken postimplantasyon periyodunda sadece trofoblast hücrelerde ADA

bulunması embriyo yaşamı için yeterli iken, gebelik bölgesinde hem decidua hem de trofoblast hücreler ADA yönünden yetersiz ise embriyolar erken postimplantasyon dönemde ölmektedirler. Decidua ADA'nın eksik olduğu gebelik bölgelerinde ağır purin metabolizması bozuklukları gözlenmektedir (19). Erken postimplantasyon gelişim dönemi boyunca maternal-fötal yüzü oluşturan dokulardaki ADA'nın sıkı bir şekilde ayarlandığı ifade edilmiştir (20). Gebeliğin 6-9. günlerinde antimezometrial bölgede (decidua capsularis + dev trofoblast hücreleri) ADA enzim aktivitesi

yaklaşık 200 kat artmakta fakat mezometrial bölgede düşük seviyelerde kalmaktadır. İmmunohistokimyasal boyamalar ADA'nın sekonder decidua'ya önemli şekilde lokalize olduğunu ortaya çıkarmıştır. Gebeliğin 9-13. günlerinde plasentadaki (labyrinth + bazal hücreler) ADA aktivitesi birkaç kat artmış fakat embriyoda düşük bulunmuştur. Trofoblasttaki fötal ADA plasenta için önemli olabilirken, antimezometrial decidua'daki maternal ADA'nın uterus ortamındaki embriyonun uterusu yerleşimi sırasında rol oynayabileceği bildirilmiştir (21).

Tablo 1. Keçilerde gebeliğin 21., 40., 75., 100., 145. günleri ve doğumdan 10 gün sonra elde edilen serum adenozin deaminaz aktivitelerinin varyans analizi.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Günler	5	187.27	37.45	77.508 ^{xxx}
Hata	48	23.19	0.48	
Genel	53	210.46		

^{xxx} P < 0.001

İnsanlarda ADA2 allel taşıyan kadınların spontan embriyo kayıplarına karşı daha iyi korunduğu ve daha yüksek bir fertilitateye sahip oldukları (22) ve ABO kan grubu antijenlerini kapsayan hücreden hücreye etkileşimlerin implantasyonda önemli rol oynayabildiği ve ADA'nın lokal adenozin konsantrasyonlarını kontrol etmek suretiyle, başarılı implantasyon olasılıklarını etkileyen bu hücrel etkileşimleri düzenleyebileceği belirtilmiştir (23).

Koyunlarda yağ dokuda laktasyon döneminde ADA aktivitesinde bir yükselme olduğu fakat gebeliğin bu enzim üzerine belirgin bir etkisi olmadığı bildirilirken (24), gebe koyun plazmasında doğumdan önce 70-43., 42-22., 21-15., 14-8. ve 7-1. günlerdeki ADA düzeyleri arasında önemli farklılıklar olduğu belirtilmiştir (25). Serum ADA aktivitelerinin gebe olmayan ineklerde 123.4 ve gebe ineklerde 81.4 n.kat/litre çıktığı (10) ve sağlıklı süt ineklerinde serum ADA seviyesinin en düşük değere gebelik döneminde ulaştığı (9) ifade edilmiştir. Kadınlarda gebeliğin 1., 2., ve 3. dönemleri arasında ADA düzeyleri farklı çıkmamış ancak gebe ve gebe olmayanlar arasında önemli konsantrasyon farkları bildirilmiştir (26).

Bu çalışmada ADA düzeylerinin gebelikte azaldığı izlenmiş ve gebeliğin farklı dönemlerinde elde edilen değerler arasında önemli farklar bulunmuştur. ADA düzeyindeki azalma gebeliğin ilerlemesine paralel olmuş ve doğuma en yakın dönemde en küçük değer elde edilmiştir. İntrauterin koyun fötüsleri üzerinde yapılan bir çalışmada (27) ADA verildiğinde adenozin'in azaldığı, plazma adenozininin koyun fötüsü veya yeni doğan yavru için bir enerji durum

habercisi rolü oynayabileceği ve bu suretle oksijen temini ve oksijen talebi arasındaki dengenin devamına katkı sağlayabileceği belirtilmiştir. Çalışmada gebelik ilerledikçe ADA seviyesinin düşmesi, yukarıdaki gibi fötüsün büyümesi ve enerji depolaması için adenozinin yüksek olması ihtiyacından ileri gelebilir veya bir araştırmada (26) belirtildiği gibi gebelikte hücrel bağışıklığın baskılanmasının belirleyicisi olabilir. Koyunlarda gebeliğin 50., 100., 145. günlerinde doğru orantılı olarak lösin aminopeptidaz aktivitesinin arttığı ve bunun da gebelik tespitinde önemli olabileceği belirtilmiştir (28). Keçilerde yapılan bu çalışmada aşım sonrası 21. günde ve daha sonra elde edilen ADA aktivitelerinin doğum sonrasındakinden farklı çıkması bu enzim aktivitesi ölçümlerinin erken gebelik tanısında yararlı olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, keçilerde gebelik döneminde serum ADA aktivitesinin önemli derecede düştüğü, bu düşüşün aşım sonrası 21. günden itibaren belirlenebileceği ve gebelik tanısında yararlı olabileceği ve gebeliğin ilerlemesine paralel olarak ADA aktivitesi düşüşlerinin sağlıklı bir gebeliğe işaret edebileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Dwivedi M, Misra SP, Misra V, Kumor R: Value of Adenosine Deaminase Estimation in the Diagnosis of Tuberculous Ascites. The American Journal of Gastroenterology, 85(9): 1123-1125, (1990).
- 2- Hirschberger J, Koch S: Validation of the determination of the activity of adenosine deaminase in the body effusions of cats. Research in Veterinary Science 59: 226-229, (1995).

- 3- Hirschberger J, Koch S: Validation of an Adenosine Deaminase Assay and Its Use in the Evaluation of Body Fluids in Dogs. Veterinary Practice Publishing Company, California, (1996).
- 4- Yasuda J, Tanabe T, Hashimoto A, Too K: Adenosine Deaminase (ADA) activity in tissues and sera from normal and leukaemic cattle. *Br. Vet. J.*, 152: 485-488, (1996).
- 5- Ungerer JPI, Burger HM, Bissbort SH, Vermaak WJH: Adenosine Deaminase Isoenzymes in Typhoid Fever. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 15: 510-512, (1996).
- 6- Gülmezoğlu E, Ergüven S: İmmunoloji. Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, (1994).
- 7- Tanabe, T: Adenosine deaminase activities in the sera and tissues of animals and their clinical significance. *Jpn. J. Vet. Res.* 41(1): 52, (1993).
- 8- Vernon RG, Taylor E: Enzymes of adenosine metabolism of sheep adipose tissue: changes in activity with season, pregnancy and lactation. *Horm. Metabol. Res.* 18: 369-373, (1986).
- 9- Chikuma S: Clinicopathological studies of serum adenosine deaminase activity in cattle. *Jpn. J. Vet. Res.* 45(2): 125-126, (1997).
- 10- Synwall R, Kolb E, Grundel G, Schineff C, Schimidh U: Activity of adenosine deaminase, 5'-nucleotidase and of Mg-, Na, K- and Ca-ATPase in supernatant and homogenate of various tissues and of adenosine deaminase in the serum of cattle. *Archiv-fur-Experimentalle-Veterinarmedizin* 41(2): 147-159, (1987).
- 11- Glick D: Enzymatic methods used for diagnosis, methods of biochemical analysis. Vol. XIII, Interscience Publishers, John Wiley & Sons 344-345, (1965).
- 12- Harvey WR: Users guide for LSMLMWPC-1 version. Mixed model least squares and maximum likelihood computer program. Ohio State University, Columbus, Mimco, (1987).
- 13- Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F: İstatistik Metodlar I. A. Ü. Ziraat Fak., Yayın No: 861, Ankara, (1983).
- 14- Blackburn MR, Wakamiya M, Caskey CT, Kellems RE: Tissue-specific rescue suggests that placental adenosine deaminase is important for fetal development in mice. *J. Biol. Chem.* 270(41): 23891-23894, (1995).
- 15- Blackburn MR, Datta SK, Wakamiya M, Vartabedian BS, Kellems RE: Metabolic and immunologic consequences of limited adenosine deaminase expression in mice. *J. Biol. Chem.* 271: 15203-15210, (1996).
- 16- Knudsen TB, Gray MK, Church JK, Blackburn MR, Airhart MJ, Kellems RE, Skalko RG: Early postimplantation embryo lethality in mice following in utero inhibition of adenosine deaminase with 2'-deoxycoformycin. *Teratology* 40(6): 615-626, (1989).
- 17- Shi D, Kellems RE: Transcription factor AP-2gamma regulates murine adenosine deaminase gene expression during placental development. *J. Biol. Chem.* 273(42): 27331-27338, (1998).
- 18- Shi D, Winston JH, Blackburn MR, Datta SK, Hanten G, Kellems RE: Diverse genetic regulatory motifs required for murine adenosine deaminase gene expression in the placenta. *J. Biol. Chem.* 272: 2334-2341, (1997).
- 19- Blackburn MR, Knudsen TB, Kellems RE: Genetically engineered mice demonstrate that adenosine deaminase is essential for early postimplantation development. *Development*, 124(16): 3089-3097, (1997).
- 20- Knudsen TB, Green JD, Airhart MJ, Highley HR, Chinsky JM, Kellems RE: Developmental expression of adenosine deaminase in placental tissues of the early postimplantation mouse embryo and uterine stroma. *Biol. Reprod.* 39: 937-951, (1988).
- 21- Knudsen TB, Blackburn MR, Chinsky JM, Airhart MJ, Kellems RE: Ontogeny of adenosine deaminase in the mouse decidua and placenta: immunolocalisation and embryo transfer studies. *Biol. Reprod.* 44: 171-184, (1991).
- 22- Nicotra M, Bottini N, Grasso M, Gimelfarb A, Lucarini N, Cosmi E, Bottini E: Adenosine deaminase and human reproduction: a comparative study of fertile women and women with recurrent spontaneous abortion. *Am. J. Reprod. Immunol.* 39(4): 266-270, (1998).
- 23- Lucarini N, Nicotra M, Gloria-Bottini F, Borgiani P, Amante A, Mutinelli C, Signoretti F, Torre M, Bottini E: Interaction between ABO blood groups and ADA genetic polymorphism during intrauterine life. A comparative analysis of couples with habitual abortion and normal puerperae delivering a live-born infant. *Hum. Genet.* 96(5): 527-531, (1995).
- 24- Vernon RG, Taylor E: Enzymes of adenosine metabolism of sheep adipose tissue: changes in activity with season, pregnancy and lactation. *Horm. Metab. Res.* 18(6): 369-373, (1986).
- 25- Kolb E, Lippmann R, Schwabe H, Kirbach H, Kricke A, Leo M, Wahren W, Vallentin G: The concentration of ascorbic acid, total protein, alpha-amino-N, glucose, 3-hydroxybutyrate and cholesterol and the activity of adenosine deaminase in the blood of sheep in five different periods of pregnancy and the content of ascorbic acid in 14 tissues. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 106(1): 10-14, (1993).
- 26- Jaqueti J, Martinez-Hernandez D, Hernandez-Garcia R, Navarro-Gallar F, Arenas-Barbero J: Adenosine deaminase in pregnancy serum. *Clinical Chemistry* 36(12): 2144, (1990).
- 27- Karimi A, Ball KT, Power GG: Exogenous infusion of adenosine depresses whole body O2 use in fetal/neonatal sheep. *J. Appl. Physiol.* 81(2): 541-547, (1996).
- 28- Kaya N, Bekyürek T, Utlu N, Çolak A: Gebe koyunlarda lösin aminopeptidaz aktivitesinin tayini. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences* 18 265-268, (1994).

Yazışma Adresi:

Muhammet Alan
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı
VAN-TÜRKİYE