

## Kistik Ekinokokkozisli Sığırlarda Serum Malondialdehit, Seruloplazmin ve Adenozin Deaminaz Düzeylerinin Belirlenmesi

Cevat NİSBET<sup>1</sup>, Sena ÇENESİZ<sup>1</sup>, Mustafa AÇICI<sup>2</sup>, Şinasi UMUR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun-TÜRKİYE

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Samsun-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışmada, kistik ekinokokkozisli sığırlarda serum malondialdehit (MDA), seruloplazmin (CER) ve adenozin deaminaz (ADA) konsantrasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 2-3 yaşlarında 15 adet kist hidatik (*E.granulosus*) ile enfekte hayvan Grup I' ve 10 adet sağlıklı ve kist hidatik negative hayvan da Grup II'yi oluşturdu. Samsun yöresinde mezbahaneye gelen sığırlar venöz kan alındıktan sonra kesime sevk edildi. Nekropsi sonucu değişik organlarda kistik ekinokokkozis açısından şüpheli lezyonlardaki kistik yapılar parazitolojik olarak incelendi ve protoskoleks yönünden pozitif olan sığırlar çalışmanın deneme grubunu, klinik olarak sağlıklı ve organ muayenelerinde herhangi bir lezyon bulunmayan sığırlar ise kontrol grubunu oluşturdu. Pozitifliği saptanan hayvanların serum MDA, CER ve ADA düzeyleri ölçülerek sağlıklı hayvanlar ile kıyaslandı. Kistik ekinokokkozis ile enfekte sığırlarda serum MDA, CER ve ADA düzeyleri sırası ile,  $1,9 \pm 0,6$  nmol/ml,  $10,2 \pm 1,8$  mg/dl ve  $43,2 \pm 3,9$  U/L, kontrol grubu sığırlarda ise,  $1,4 \pm 0,7$  nmol/ml,  $5,6 \pm 1,4$  mg/dl ve  $19,5 \pm 4,1$  U/L bulundu. Enfekte ve sağlıklı gruplar arasında serum MDA ( $p < 0,05$ ) ve ADA ( $p < 0,001$ ) düzeyleri yönünden fark önemli bulunurken, CER değerleri yönünden fark önemsiz bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Adenozin deaminaz, kistik ekinokokkozis, malondialdehit, seruloplazmin.

### Determination of the Serum Malondialdehyde, Ceruloplasmin, Adenosine Deaminase Levels in Cattle with Cystic Echinococcosis

**Summary:** In this study, malondialdehyde (MDA), ceruloplasmine (CER) and adenosine deaminase (ADA) concentrations were investigated in cattle with cystic echinococcosis. Group I consisted of 15 cattle with cystic echinococcosis whereas Group II consisted of 10 clinically healthy cattle aged 2-3 years. Venous blood samples were taken from the animals before being slaughtered in the Samsun province. At necropsy, suspicious structures in lesions were examined parasitologically concerning cystic echinococcosis in various organs and animals with protoscolex formed the experimental group and the control group consisted of animals which were found clinically healthy and without any lesions in their examinations. Serum MDA, CER and ADA levels were measured in positive animals and compared with the levels of healthy animals. Serum concentrations of MDA, CER and ADA (mean  $\pm$  standard deviation) of Group I were determined as  $1.9 \pm 0.6$  nmol/ml,  $10.2 \pm 1.8$  mg/dl and  $43.2 \pm 3.9$  U/L whereas in the control group, they were  $1.4 \pm 0.7$  nmol/ml,  $5.6 \pm 1.4$  mg/dl and  $19.5 \pm 4.1$  U/L respectively. There was a statistically significant difference in MDA ( $p < 0.05$ ) and ADA ( $p < 0.001$ ) values between Group I and II while the difference in CER value ( $p > 0.05$ ) was not significant.

**Key Words:** Adenosine deaminase, ceruloplasmine, cystic echinococcosis, malondialdehyde.

### Giriş

Ekinokokkozis, hem insan hem de evcil hayvanları etkileyen dünyadaki en önemli zoonozlardandır. Köpek, kurt, çakal gibi karnivorların ince bağırsaklarında yaşayan *ecinococcus granulosus* koyun, keçi, sığır, manda, at, insan gibi pek çok canlıyı arakonak olarak kullanmakta ve arakonak tarafından ağızdan alınan yumurtalardan serbest kalan onkosfer karaciğer, akciğer başta olmak üzere, kalp, böbrek, üreter, dalak, uterus, mezenter, pankreas, diyafram ve kaslara yerleşerek parazitin larva formu olan kist hidatiği oluşturmaktadır (1,15, 25). Klinik bulguların yeterince belirgin olmaması ve parazitolojik yoklamaların spesifik sonuçlar vermemesi nedeniyle ara konaklardaki teşhisinde sıkıntılar ortaya çıkmaktadır.

Özellikle yeni oluşmakta olan kistlerin radyodiagnostik yöntemlerle tespiti güç olmaktadır. Hastalığın erken tanısı şüphesiz ki tedavideki başarı oranını da artırmaktadır (16).

Serbest radikallere bağlı hücre hasarındaki en önemli mekanizmalardan biri membranlardaki lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu sonucu membranlarda yapısal ve fonksiyonel hücre hasarı oluşur. malondialdehit (MDA), ölçümü, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (13).

Seruloplazmin (CER), ferooksidaz aktivitesiyle, fenton reaksiyonunu inhibe ederek, antioksidan işlevini görmektedir. Ayrıştırılmış insan serüloplazminin, lipidlerin artıklarını, poliansatüre yağ asitlerinin ve fosfolipidlerin oksidasyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuştur (4, 5).

Adenozin deaminaz (ADA) bütün vücut doku ve sıvılarında yer alarak, özellikle lenfoid hücrelerde lenfositlerin çoğalmasında ve farklılaşmasında rol oynamaktadır (8). Adenozin deaminaz aktivitesi immün cevabına bağlı olarak değişerek immün sistem aktive olduğu durumlarda artmakta, baskılandığında ise azalmaktadır (10, 23).

Kist hidatik sıvısında çeşitli biyokimyasal parametreler, oksidan ve antioksidan çalışmalar olmasına karşın enfekte canlılarda serum MDA, CER ve ADA düzeylerinin verisine rastlanılamamıştır. Bu çalışmada sığırların serumlarında MDA, CER düzeyi ve ADA aktivitesi ölçülerek biyokimyasal değişimlerin hastalığın teşhisinde ve prognozunun belirlenmesinde kullanılabilirlik düzeyinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmanın materyalini Samsun bölgesinde kontrollü işletmelerden mezbahaneye gelen 2-3 yaşlı sığırlar oluşturdu. Kesim öncesi sığırların genel sağlık durumları fiziki muayene ile kontrol edilerek kan örnekleri alındı. Kesim sonrası hayvanların değişik organlarında kist hidatik muayenesi yapıldı. Alınan lezyonlardaki kistik yapılar parazitolojik olarak mikroskopta incelendi. Protoskoleks yönünden pozitif (fertil kist) olan 15 adet sığır çalışmanın deneme grubunu, organ muayenelerinde herhangi bir patolojik lezyon bulunmayan ve fiziki muayenede sağlıklı görünen 10 adet sığır ise kontrol grubunu oluşturdu. Alınan kan örnekleri +4°C'da laboratuvara taşındı ve 3000 rpm'de +4°C'da 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Serum örneklerinde analizler bekletilmeden gerçekleştirildi.

Serum MDA analizleri Uchiyama ve Mihara (24), CER analizleri Colombo ve Richterich (6) ve ADA aktivite tayini ise modifiye Bertholet reaksiyonuna dayanan Giusti (11) yöntemi kullanılarak yapıldı. Araştırma cevaplarının istatistiksel açıdan karşılaştırılmasında T testi kullanıldı.

### Bulgular

Ekinokokkozisli ve sağlıklı sığırlarda serum MDA, CER ve ADA konsantrasyonları Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu çalışmada enfekte ve kontrol grubuna ait MDA ve CER düzeyleri sırasıyla  $1,9 \pm 0,6$  nmol/ml,  $1,4 \pm 0,7$  nmol/ml,  $10,2 \pm 1,8$  mg/dl ve  $5,6 \pm 1,4$  mg/dl bulundu. Enfekte ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark MDA için  $p < 0,05$ , CER için  $p > 0,05$  olarak tespit edildi. ADA aktivitesi ise sırası ile  $19,5 \pm 41$  U/L,  $43,2 \pm 3,9$  U/L ve istatistiksel fark ise  $p < 0,001$  olarak bulundu.

### Tartışma ve Sonuç

Kist hidatik hastalığı hayvancılıkla uğraşan Avrupa, Asya ve Ortadoğu ülkelerinin önemli bir halk sağlığı ve ekonomik sorunudur. Ekinokokkal ve alveolar kist hidatik hastalığı ülkemizde endemik olmakla birlikte, hastalıkla ilgili veriler kısıtlıdır. Sorunun ortaya çıkmasında birçok faktör önem taşır. Yerleşimin %60-70 düzeyinde kırsal kesimde olması, tarım ve hayvancılıkla geçinilmesi, E. granulosus'un yaşam siklusu için gereken köpek-ruminant gibi hayvanların bir arada bulunması, köpeklerdeki hastalığın tedavisi ve önlenmesinin güçlüğü, kurban bayramında özensiz hayvan kesimi gibi faktörler etkilidir (2). Enfeksiyonun kaynağı köpek, kurt, çakal gibi etçil hayvanlardır. Etkenin bulaşması yumurtalarla bulaşan gıdaların yenmesiyle olabileceği gibi, solunum ve cilt yoluyla da bulaşabilir. Barsakta yumurtadan çıkan embriyo (onkosfer), mukozaya tutunarak portal ven yoluyla karaciğere geçip kist hidatiğe neden olur. Onkosfer burada tutunamazsa pulmoner arter yoluyla akciğerlere geçerek akciğer kist hidatiğine yol açar veya sistemik dolaşımıyla diğer organlara (dalak, periton, böbrek, kemik, orbita boşluğu, beyin, kalp ve üreme organları) yayılır. Parazit ulaştığı noktalarda ya fagosite edilir veya primer enfeksiyona neden olur (2, 3, 17).

Poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona giren oksijen radikalleri DNA ve bazı proteinlerle etkileşerek

**Tablo 1.** Kistik ekinokokkozisli ve sağlıklı sığırların serum MDA, CER düzeyleri ve ADA aktivitesi.

	Kist hidatik (n=15) X±SD	Sağlıklı (n=10) X±SD	t	p
MDA (nmol/ml)	1,9 ± 0,6	1,4 ± 0,7	0,019	<0,05
CER (mg/dl)	10,2 ± 1,8	5,6 ± 1,4	0,073	>0,05
ADA (U/L)	43,2 ± 3,9	19,5 ± 4,1	0,001	<0,001

birçok ürün oluştururlar. Malondialdehit lipid peroksidasyonunun en önemli ürünlerindedir. Oksijen radikalleri konak savunmasının ve doku hasarının önemli mediyatörleridir. Oksidatif stresle karakterize durumlarda radikaller üretilirler ve poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonunu gösterirler. Lipid peroksit ürünleri çeşitli hayvan hastalıklarının klinik tablolarında oksijen radikal aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (7, 20). Yapılan bu çalışmada da lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeyi kistik ekinokokkozisli sığırlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Akut faz proteinleri klinik açıdan hayvan hastalıklarının tanısında, prognozun belirlenmesinde ve rasyonel tedavi esaslarının tespitinde önemli bir yer tutmaktadırlar (9). Akut faz proteinlerinden olan CER çeşitli enfeksiyonlarda % 50 oranına kadar artabilmekte ve bu sayede hastalığın sağaltımının tam olarak gerçekleşip gerçekleşmediğinin tespiti yapılabilmektedir (19, 22). Ayrıca CER organizmada antioksidan olarak görev yapmaktadır. Seruloplazmin serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek, dokularda ve plazmada bulunan oksidanların zararlarını engellemektedir (14). Seruloplazmin düzeylerindeki artış bir akut faz yanıtı ile kısmen açıklanabilir. Çünkü akut faz reaktanı olarak bilinen CER (21) ekinokokkozise bağlı oluşan doku hasarına yanıt olarak karaciğerden dolaşıma atılmış olabilir. Yapılan bu çalışmada CER değerleri kistik ekinokokkozisli sığırlarda yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulundu ( $p > 0.05$ ).

Kistik ekinokokkozise karşı hücrel ve humoral immün yanıt oluştuğu, parazitin immünolojik kontrolünde T-lenfositlerin önemli rol oynadığı, makrofaj ve nötrofillerin metasesodlarla mücadele ettiği ortaya konmuştur (12). Adenozin deaminaz bütün memeli hücrelerinde, özellikle de lenfoid hücrelerde lenfositlerin proliferasyonu ve differansiyasyonunda rol oynamaktadır. Adenozin deaminaz T lenfositlerde B lenfositlere göre daha yüksek oranda bulunmakta ve T hücre farklılaşması sırasında belirgin olarak artış göstermektedir. Bu nedenle, ADA hücrel immünitenin bir göstergesi olarak da kabul edilmektedir (8,18). Bu çalışmada sonucunda ADA aktivitesinin kistik ekinokokkozisli sığırlarda anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ( $p < 0,001$ ). Daha önce kistik ekinokokkoziste MDA ve CER seviyesi ile ADA aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmadığından dolayı benzer bir çalışma ile karşılaştırması yapılamadı.

Sonuç olarak kistik ekinokokkozisli sığırlarda lipid peroksidasyonun artması sonucu MDA seviyesinde artış meydana geldiği, bu artışa paralel olarak CER de antioksidan savunma için arttığı, ADA aktivitesinin ise kist hidatik tarafından hücre aracılı immün sistemin uyarılması sayesinde artmış olabileceği düşünüldü. Sığırlarda ekinokok kisti vakalarında antioksidan sistemdeki değişimlerle ilgili deneysel çalışmaların sınırlı olması nedeni ile klinik ve laboratuvar bulgularıyla bu üç parametrenin ilişkisinin anlamlı olup olmadığının değerlendirilebilmesi güçleşmektedir. Bu konuda daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

### Kaynaklar

1. Altınörs N, Fenveli E, Dönmez T, Bavbek M, Kars Z, Sani M, 1995. Management of problematic intracranial hydatid cysts. *Infect*, 23: 283-287.
2. Altıntaş N, 1998. Cystic and alveolar echinococcosis in Turkey. *Ann Trop Med Parasitol*, 92: 637-642.
3. Blanton R, 2000. *Echinococcosis (E. Granulosus and E. multilocularis)*. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Nelson Textbook of Pediatrics. 16th ed., Philadelphia: WB, Saunders, pp.1079-1081.
4. Burkitt M, 2003. Chemical, biological and medical controversies surrounding the fenton reaction. *Prog Reac Kin Mech*, 28: 75-103.
5. Cha M, Kim I, 1999. Ceruloplasmin has a distinct active site for the catalyzing glutathione-dependent reduction of alkyl hydroperoxide. *Biochem*, 38: 12104 – 12110.
6. Colombo J, Richterich R, 1964. Zur Bestimmung Des ceruloplasmin in plasma. *Schweiz Med Wschr*, 94: 715-720.
7. Fabris C, Pirisi M, Panozzo M, 1993. Intensity of inflammatory damage and serum lipid peroxide concentrations in liver disease. *J Clin Pathol*, 46: 364-367.
8. Fischer D, Martin B, Wayden V, Synderman R, 1976. Role of adenosine deaminase in human monocyte maturation. *J Clin Invest*, 58: 399-407.
9. Floris G, Medda R, Padiglia A, Musci G, 2000. The physiopathological significance of ceruloplasmin a possible therapeutic approach. *Biochem Pharmacol*, 60(12):1735-1741.

10. Gakis C, Cappio-Borlino A, Pulina G, 1998. Enzymes (isoenzyme system) as homeostatic mechanisms the isoenzyme (ADA<sub>2</sub>) of adenosine deaminase of human monocytes-macrophages as a regulator of the 2'deoxyadenosine. *Biochem Mol Biol Int*, 46: 487-494.
11. Giusti G, 1974. Adenosine deaminase., Bergmeyer HU. ed., *In Methods of Enzymatic Analysis* Vol.2, New York, Academic Press, pp.1092-1099.
12. Gottstein B, 1992. Molecular and immunological diagnosis of Echinococcosis. *Clin Microbiol Rev*, 5: 248-261.
13. Grisotto Pc, Dos Sandos Ac, Continho-Netto J, Cherri J, Piccinato C, 2000. Indicators of oxidative injury and alterations of the cell membrane in the skeletal muscle of rats submitted to ischemia and reperfusion. *J Surg Res*, 92: 1-6.
14. Gruys E, Oblowo Mj, Toussaint J, 1994. Diagnosis significance of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: A review. *Vet Bull*, 11: 1009 - 1015.
15. Güralp N, 1981. Helmintoloji. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları*, Ankara Üniv Basımevi, Ankara, pp. 368-369.
16. Hira P, Bahr G, Shweiki H, Behbehani K, 1990. An enzyme linked immunosorbent assay using an arc 5 antigen for the diagnosis of cystic hydatid diseases. *Ann Trop Med Parasitol*, 84: 157-162.
17. King C, 2000. Echinococcosis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. eds. *Principles and Practice of Infectious Disease*. Fifth Edition. New York: Churchill, Livingston, pp.2962-2963.
18. Koehler Lh, Benz Ej, 1962. Serum adenosine deaminase methodology and clinical applications. *Clin Chem*, 8: 133-140.
19. Koshner I, 1982. The phenomenon of the acute phase response. *Ann NewYork Acad Sci*, 389: 39-45.
20. Marnett L, 2002. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 181-2: 219-222.
21. Mc Pearson R, 1996. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. (In: Henry JB, editor.) W. B. Saunders Company Philadelphia, pp. 237-257.
22. Nakajima Y, Momotani E, Murakami T, Ishikawa Y, Morimatsu M, Saito M, Suzuki H, Yasukawa K, 1993. Induction of acute phase protein by recombinant human interleukin-6 (IL-6) in calves. *Vet Immunol Immunopathol*, 35: 385-391.
23. Turkozkan N, Ozkurt Ş, Arıcıoğlu A, Görgün M, Özkurt M, 1987. Dietilnitrozaminle oluşturulan kanserleşme olayının erken döneminde fare karaciğer adozin deaminaz aktivitesindeki değişimler. *Türk J Biochem*, 3: 19-24.
24. Uchiyama M, Mihara M, 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*, 86: 271.
25. Yıldız K, Tunçer Ç, 2005. Kırıkkale'de sığırlarda kist hidatik'in yayılışı. *T Parazitol Derg*, 3: 247-250

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Cevat NİSBET  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Biyokimya ABD, 55139, Kurupelit/ Samsun  
Tel: +90 03623121919-3908  
Fax: +90 03624576922  
e-posta: cnisbet@omu.edu.tr

