

## The Serum Amyloid-A, Haptoglobin, Ceruloplasmin and Albumin Levels in Dogs Which are Infected with *Babesia canis*

Ali Haydar KIRMIZIGÜL<sup>1\*</sup>, Ekin Emre ERKILIÇ<sup>1</sup>, Oğuz MERHAN<sup>2</sup>, Metin ÖĞÜN<sup>3</sup>, Neslihan ÖLMEZ<sup>4</sup>, Gencyay Taşkın TAŞÇI<sup>5</sup>, Zati VATANSEVER<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, TR-36100 Kars - Turkey

<sup>2</sup>Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, TR-36100 Kars - Turkey

<sup>3</sup>Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, TR-36100 Kars - Turkey

<sup>4</sup>Kafkas University, Kars Vocational School, TR-36100 Kars - Turkey

<sup>5</sup>Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, TR-36100 Kars - Turkey

### ABSTRACT

In this study, we aimed to determine the serum haptoglobin (Hp), serum amyloid-A (SAA), ceruloplasmin (Cp) and albumin (Alb) levels in the dogs which are naturally infected with *Babesia canis*. 20 patient dogs which were diagnosed as *B. canis* by staining of their blood smears with giemsa method, which were brought to Kafkas University Veterinary Faculty Internal Medicine Department clinics formed the material of the study. 10 Healthy dogs were used for control. The serum Hp, SAA, Cp and Alb levels of the sick animals were determined as  $0.44 \pm 0.12$  mg/mL,  $43.18 \pm 13.77$  µg/mL,  $10.75 \pm 2.45$  mg/dL,  $2.74 \pm 0.15$  g/dL, respectively. Whereas, the serum Hp, SAA, Cp and Alb values of the healthy animals were measured as  $1.84 \pm 0.29$  mg/mL,  $1.18 \pm 0.40$  µg/mL,  $4.80 \pm 0.53$  mg/dL,  $3.01 \pm 0.34$  g/dL, respectively. While the SAA and Cp values of the sick animals were determined higher than that of the healthy animals, the (P <0.001), the Hp (P <0.001) and the Alb (P <0.01) levels were found to be lower. As a result, it was determined that the serum SAA and Cp levels increased, and the Hp and Alb levels decreased in the dogs which are infected with *B. canis*.

**Keywords:** Albumin, *Babesia canis*, Ceruloplasmin, Dog, Haptoglobin, Serum Amyloid-A

\*\*\*

### *Babesia canis* ile Enfekte Köpeklerde Serum Amiloid-A, Haptoglobin, Seruloplazmin ve Albumin Seviyeleri

### ÖZ

Bu çalışmada *Babesia canis* ile doğal enfekte köpeklerde serum haptoglobin (Hp), serum amiloid-A (SAA), seruloplazmin (Cp) ve albumin (Alb) seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın materyalini, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı kliniklerine getirilen, kan frotilerinin giemsa yöntemi ile boyanması sonucunda *B. canis* tanısı konulan 20 hasta köpek oluşturdu. Kontrol amacı ile 10 sağlıklı köpek kullanıldı. Hasta hayvanların serum Hp, SAA, Cp ve Alb seviyeleri sırasıyla  $0.44 \pm 0.12$  mg/mL,  $43.18 \pm 13.77$  µg/mL,  $10.75 \pm 2.45$  mg/dL,  $2.74 \pm 0.15$  g/dL olarak belirlendi. Sağlıklı hayvanların serum Hp, SAA, Cp ve Alb değerleri ise sırasıyla  $1.84 \pm 0.29$  mg/mL,  $1.18 \pm 0.40$  µg/mL,  $4.80 \pm 0.53$  mg/dL,  $3.01 \pm 0.34$  g/dL olarak ölçüldü. Hasta hayvanların SAA ve Cp değerleri sağlıklı hayvanlara göre daha yüksek bulunurken (P<0.001), Hp (P<0.001) ve Alb (P<0.01) seviyelerinin daha düşük olduğu belirlendi. Sonuç olarak köpeklerde *B. canis* enfeksiyonunda serum SAA ve Cp değerleri yükselirken, Hp ve Alb seviyelerinin düştüğü belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Albumin, *Babesia canis*, Seruloplazmin, Köpek, Haptoglobin, Serum Amiloid-A

To cite this article: Kirmizigül A.H, Erkiliç E.E, Merhan O, Öğün M, Ölmez N, Taşçı G.T, Vatansever Z. The Serum Amyloid-A, Haptoglobin, Ceruloplasmin and Albumin Levels in Dogs Which Are Infected with *Babesia canis*. Kocatepe Vet J. (2020) 13(2):219-223

Submission: 06.01.2020 Accepted: 14.05.2020 Published Online: 29.05.2020

ORCID ID; AHK: 0000-0002-6660-2149, EEE: 0000-0003-2461-5598, OM: 0000-0002-3399-0667, MÖ: 0000-0002-2599-8589, NÖ: 0000-0002-2191-8924, GTT: 0000-0002-8590-1101, ZV: 0000-0003-3460-3849

\*Corresponding author e-mail: ahkirmizigul@hotmail.com

## GİRİŞ

Kanın babeziozis, köpeklere keneler tarafından taşınan, Babesia türü protozoonlar tarafından oluşturulan ve ölümcül sonuçlara neden olabilen protozoer bir hastalıktır. (Dantas-Torres ve Figueredo 2006, Beck ve ark. 2009, Solano-Gallego ve Baneth 2011, Erkilic 2019). Hastalık etkenleri eritrositler içerisine yerleşerek eritrositlerin parçalanmasına neden olurlar. Etkenler eritrositlerin içerisinde armut şeklinde görülmektedir. Enfeksiyon evcil köpekler ve yabani karnivorlarda görülmekte olup dünyada yaygındır (Gökçe ve ark. 2013, Sudhakara Reddy ve ark. 2016, Erkilic 2019). Hastalık klinik olarak perakut, akut, kronik ve subklinik seyretmektedir (Gökçe ve ark. 2013). Klinik olgularda genellikle ateş, anoreksi, depresyon, hemoglobüri, kusma, ikterus ve anemi görülmektedir (Shah ve ark. 2011).

Doku hasarı sonucu nöro-immüno-humoral sistemin uyarılarak doku hasarına hızlı adaptasyon, zararlı ajanların ortadan kaldırılması ve hasarlı dokunun onarılmasını sağlanmasına akut faz yanıt (AFY) denir (Milanović ve ark. 2018). Akut lokal ve sistemik yangıların dışında kronik yangılarda da AFY meydana gelmektedir (Tuna ve Ulutaş 2015). AFY sonucunda sentezlenen proteinlere akut faz proteinler (AFP) denilmekte olup genellikle karaciğerde hepatositler ve bazı ekstrahepatik alanda üretilmektedir (Gökçe ve Bozukluhan 2009, Tuna ve Ulutaş 2015). Bu AFP'lerden biri olan serum amiloid-A (SAA), bir yangı modülatörü olup kolesterolün metabolizmasında ve taşınmasında önemli rol oynar (Sevgisunar ve Şahinduran 2014, Tuna ve Ulutaş 2015). Hastalıklarda serum SAA değerinin ölçülmesi, yangının şiddetinin belirlenmesi, yangısal ve yangısal olmayan hastalıkların ayrımının yapılmasında önem arz etmektedir. Ayrıca hastalığın prognozunu belirlenmesi ve uygulanan tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde de önemlidir (Batrel ve ark. 2003).

Haptoglobin (Hp) karaciğer tarafından sentezlenmekte olup görevi kandaki serbest hemoglobinle stabil kompleksler oluşturarak demir kaybını önlemektir (Sevgisunar ve Şahinduran 2014, Tuna ve Ulutaş 2015). Bunun sonucunda Hp bakteriyel büyüme için gerekli olan demirin kullanılabilirliğini sınırlamakta ve bakteriyostatik etki göstermektedir. Ayrıca Hp hemoglobini ve lökositlerin hücre duvarında ana reseptörler olan integrinleri bağlayarak antienflamatuar özellik gösterir (Sevgisunar ve Şahinduran 2014). Köpeklerde serum Hp seviyesi yangı, travma ve enfeksiyon durumlarında artmaktadır (Mcgrotty ve ark. 2003).

Seruloplazmin (Cp), plazmada bakırın taşınmasında görevli bir protein olup özellikle karaciğerde sentezlenmektedir. Bunun dışında ekstrahepatik

alanlarda ve akciğer hava yollu epitellerinden de üretilmektedir. Dokuları demir içeren serbest radikallerin oluşturacağı hasarlardan korur, antioksidan ve hücre koruyucu aktivite gösterir (Sevgisunar ve Şahinduran 2014, Erkilic 2019).

Albumin (Alb) karaciğer tarafından sentezlenmekte olup en önemli görevi plazma onkotik basıncının dengede tutulmasını sağlamaktadır (Gökçe ve Bozukluhan 2009). Akut faz reaksiyonlarda plazma Alb seviyesinde düşüş meydana gelmektedir (Tuna ve Ulutaş 2015). Bu nedenle negatif akut faz proteinleri içerisinde yer almaktadır (Coşkun ve Şen 2011).

Bu çalışmada kanın babeziozis ile doğal enfekte köpeklerde serum Hp, SAA, Cp ve Alb seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Çalışmanın materyalini, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı kliniklerine getirilen B. canis enfeksiyonu tanısı konulan 20 hasta ve 10 sağlıklı köpek oluşturdu. B. canis enfeksiyonu tanısı klinik muayeneler ve kan frotilerinin giemsa boyama yöntemi ile boyanarak mikroskopik muayenede (100X) eritrositler içerisinde B. canis etkenlerinin görülmesi ile konuldu. Hasta ve sağlıklı hayvanların V. cephalyca accesorius'larından serum tüplerine 5'er mL kan alındı. Bu kanlar 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıştırıldı. Serumlar SAA, Hp, Cp ve Alb seviyeleri ölçülene kadar -20°C'de muhafaza edildi.

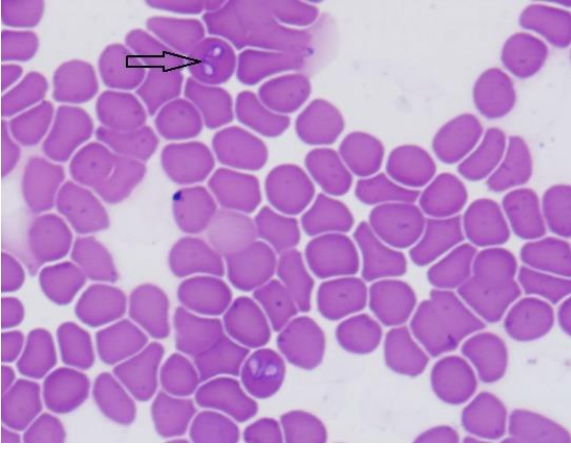
Serum örneklerinde albümin konsantrasyonu ticari kit (Biolabo, Fransa) kullanılarak, haptoglobin, serum amiloid A (Tridelta development limited, İrlanda) konsantrasyonu ELISA kiti ile seruloplazmin ise Colombo ve Ricterich (1964) bildirdikleri yöntemle göre kolorimetrik (Epoch, Biotek, USA) olarak belirlendi.

### İstatiksel Analiz

Elde edilen sonuçlara SPSS 18 paket programında normalite testi yapıldı ve verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildikten sonra t-testi yapıldı. Tüm sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. P değeri 0.05'ten küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Hasta hayvanların klinik muayenesinde depresyon, anoreksi, ikterus, anemi ve hemoglobüri olduğu belirlendi. Kan frotilerinin giemsa boyama yöntemi ile boyanması sonucunda 100X büyüme ile mikroskopik muayenede eritrositler içerisinde B. canis etkenleri görüldü (Resim 1).



**Resim 1.** Hücre içi *B. canis* etkenleri (100X)  
**Figure 1.** Intracellular *B. canis* agents (100X)

Hasta ve sağlıklı hayvanlara ait serum Hp, SAA, Cp ve Alb seviyeleri Tablo 1'de verilmiştir. Hasta hayvanların SAA ve Cp değerleri sağlıklı hayvanlara göre yüksek bulunmuş olup bu farkın istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0.001$ ) olduğu belirlendi. Bunun aksine hasta hayvanların serum Hp ( $P<0.001$ ) ve Alb ( $P<0.01$ ) seviyeleri sağlıklı hayvanlara göre düşük olduğu görüldü.

**Tablo 1.** Hasta ve sağlıklı hayvanlarda serum SAA, Hp, Cp ve Alb seviyeleri.

**Table 1.** Serum SAA, Hp, Cp and Alb levels in sick and healthy animals.

Parametreler	Hasta	Kontrol	P Değerleri
	$\bar{X}\pm SD$ (n=20)	$\bar{X}\pm SD$ (n=10)	
SAA ( $\mu\text{g/mL}$ )	43.18 $\pm$ 13.77	1.18 $\pm$ 0.40	$P<0.001$
Hp (mg/mL)	0.44 $\pm$ 0.12	1.84 $\pm$ 0.29	$P<0.001$
Cp (mg/dL)	10.75 $\pm$ 2.45	4.80 $\pm$ 0.53	$P<0.001$
Alb (g/dL)	2.74 $\pm$ 0.15	3.01 $\pm$ 0.34	$P<0.01$

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanın babeziozis, babezia türüne bağlı eritrositlerin içine yerleşen protozoon parazitlerin oluşturduğu ölümcül olabilen bir hastalıktır. Enfeksiyon keneler tarafından bulaştırılan ve köpekler için önemli hastalıklardan biridir (Dantas-Torres ve Figueredo 2006, Beck ve ark. 2009, Gökçe ve ark. 2013). Köpeklerde babezioziste etken türüne ve şekillenen komplikasyonlara göre değişmekte olup klinik olarak genellikle anoreksi, depresyon, hemoglobinüri, ikterus, taşipne, taşikardi, değişen derecelerde

hemolitik anemi ve trombositopeni görülmektedir (Gökçe ve ark. 2013). Bu çalışmada da benzer şekilde babeziozisli hayvanların klinik muayenesinde depresyon, anoreksi, ikterus, anemi ve hemolobinüri olduğu belirlendi.

Serum amyloid-A karaciğerde ve ekstrahepatik olarak sentezlenmekte olup kan serumundaki seviyesi yangısal olaylarda artmaktadır (Coetzee ve ark. 1986, Batırel ve ark. 2003). SAA değerinin ölçülmesi yangının şiddetinin belirlenmesinde önemlidir. Ayrıca yangısal ve yangısal olmayan hastalıkların ayırımının yapılmasında da önemli bir biyo belirteçtir. Bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda SAA düzeyinde şiddetli artış olur (Batırel ve ark. 2003). Bu çalışmada hasta hayvanların SAA değerlerinin sağlıklı hayvanlara göre yüksek ( $P<0.001$ ) bulunması protozoer bir hastalık olan babezioziste de önemli bir yangı belirteci olabileceğini düşündürdü.

Haptoglobin eritrositlerden açığa çıkan serbest hemoglobin ile stabil kompleks oluşturarak dolaşımdan temizlenmesine ve bu şekilde demir kaybının önlenmesine yardımcı olan bir AFP'dir (Ulutaş ve ark. 2007, Tothova ve ark. 2014). Hp hemoliz sonucunda oluşan hemoglobini  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerindeki farklı yerlere bağlar (Ay ve ark. 1998). Bu bağlanma sonucunda oluşan Hp-Hb kompleksleri makrofajlarca fagosite edilir (Cray 2012, Erkılıç 2019). Çalışmamızda hasta hayvanların serum Hp değerleri sağlıklı hayvanlara göre düşük bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Bunun nedeninin babeziozise bağlı hemoliz şekillenmesi sonucunda serbest kalan Hb'nin Hp ile bağlanması ve bu kompleksin makrofajlar tarafından fagosite edilmesine bağlı olduğu düşünüldü.

Seruloplazmin köpekler için pozitif akut faz proteinlerinden biridir (Ceron ve ark. 2005, Erkılıç 2019). Cp'nin asıl görevi kandaki bakırın taşınması olup hastalıkların tanısında da kullanılabilir (Tuna ve Ulutaş 2015). Bunun yanı sıra süperoksit ve reaktif oksijeni elimine etme özelliği nedeniyle antioksidan olarak ta görev yapmaktadır (Ulutaş ve ark. 2007, Gökçe ve Bozukluhan 2009, Tothova ve ark. 2014, Tuna ve Ulutaş 2015). Köpeklerde bazı paraziter hastalıklarda, parvoviral enteritiste ve babezioziste serum Cp değerleri yüksek bulunmuştur (Ulutaş ve ark. 2005, Ulutaş ve ark. 2007, dosSantos Schmidt ve ark. 2015, Kocatürk ve ark. 2010, Erkılıç 2019) Benzer şekilde bu çalışmada da serum Cp seviyesi hasta hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre yüksek çıkmıştır. Hasta hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre Cp değerinin yüksek çıkmasının oksidatif hasar ve yangısal değişikliklere bağlı olarak şekillendiği düşünüldü.

Albuminin görevleri; bağlayıcılık ve taşıma, endojen aminoasitler için kaynak oluşturma ve plazma basıncının dengesini sağlamaktır. Organizmada gerçekleşen akut faz reaksiyonlar sonucunda serum Alb seviyesinde düşme görülmektedir. Bu nedenle

negatif AFP olarak değerlendirilmektedir (Gökce ve Bozukluhan 2009). Çalışmamızda da buna uyumlu olarak hasta hayvanların serum Alb seviyesi sağlıklı hayvanlara göre düşük ( $P<0.01$ ) bulunmuştur.

Sonuç olarak babeziozisli köpeklerde serum SAA ve Cp değerleri sağlıklılara göre yükselirken Hp ve Alb seviyelerinin düştüğü belirlendi. Serum SAA ve Cp değerlerinin yangıya bağlı olarak yükseldiği tespit edildi. Serum Hp değerindeki düşüşün hemolize bağlı olduğu, Alb değerinde ki düşmenin ise negatif AFP olma özelliğinden ileri geldiği düşünüldü.

## TEŞEKKÜR

*Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 2017-TS-40 sayısı ile desteklenmiştir.*

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## KAYNAKLAR

- Ay M, Gürbilek M, Vatanser H.** Akut faz proteinleri. Genel Tıp Derg. 1998; 8(3): 125-132.
- Aysul N, Ural K, Ulutaş B, Eren H, Karagenc T.** First detection and molecular identification of *Babesia gibsoni* in two dogs from the Aydın province of Turkey. Turk J Vet Anim Sci. 2013; 37: 226-229.
- Batrel A, Gençer S, Özer S.** Enfeksiyon göstergesi olarak akut faz reaktanları: C-reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A (SAA). Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi. 2003; 3: 220-224.
- Beck R, Vojta L, Mrljak V, Marinculic A, Beck A, Zivicnjak T, Cacciò SM.** Diversity of *Babesia* and *Theileria* species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. Int J Parasitol. 2009; 39: 843-8.
- Ceron JJ, Eckersall PD, Martınez-Subiela S.** Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. Vet Clin Pathol. 2005; 34: 85-99.
- Coetzee GA, Strachan AF, van der Westhuyzen DR, Hoppe HC, Jeenah MS, Beer FC.** Serum amyloid A-containing human high density lipoprotein 3. Ther Journal of Biological Chemistry. 1986; 261: 9644-9651.
- Colombo JP, Richterich R.** Zur bestimmung des ceruloplasmın im plasma (on the determination of ceruloplasmın in plasma). Schweiz Med Wochenschr. 1964; 94: 715-720.
- Coşkun A, Şen İ.** Sığırlarda akut faz proteinleri ve klinik kullanım alanları. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2011; 20(3): 240-246.
- Cray C.** Acute phase proteins in animals. Prog Mol Biol Transl Sci. 2012; 105: 113-150.

- Dantas-Torres F, Figueredo LA.** Canine babesiosis: a Brazilian perspective. Vet Parasitol. 2006; 141: 197-203.
- Dobryszczyka W.** Biological functions of Haptoglobin. Eur J Clin Biochem. 1997; 35(9): 647-654.
- dos Santos Schmidt EM, Rubio CP, dos Santos GJ, Barbosa L, da Motta Santos TF, de Cezaro MC.** Serum protein profile of hookworm infection in dogs. Comp Clin Pathol. 2015; 24: 1463-1466.
- Erkılıç EE.** Babesiosis'li köpeklerde tedavi öncesi ve sonrası haptoglobin, seruloplazmin ve bazı biyokimyasal parametrelerin seviyelerinin belirlenmesi. Harran Üniv Vet Fak Derg. 2019; 8(1): 77-80.
- Gökce Hİ, Bozukluhan K.** Çiftlik hayvanlarında önemli akut faz proteinleri ve bunların veteriner hekimlik alanındaki kullanımı. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 2009; 1(1): 1-14.
- Gökçe E, Kırmızıgül AH, Taşçı GT, Uzlu E, Gündüz N, Vatanser Z.** Türkiye'de Köpeklerde Babesia canis canis'in Klinik ve Parazitolojik Olarak İlk Tespiti. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2013; 19: 717-720.
- Kocaturk M, Martinez S, Eralp O, Tvarijonaviçute A, Ceron J, Yılmaz Z.** Prognostic value of serum acute phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. J Small Anim Pract. 2010; 51: 478-483.
- McGrotty YL, Knottenbelt CM, Ramsey IK, Reid SWJ, Eckersall PD.** Haptoglobin concentrations in a canine hospital population. Vet Rec. 2003; 152: 562-564.
- Milanović Z, Vekić J, Radonjić V, Božović AI, Zeljković A, Janac J, Spasojević-Kalimanovska V, Buch J, Chandrashekar R, Bojić-Trbojević Ž, Hajduković L, Christopher MM, Kovačević Filipović M.** Association of acute *Babesia canis* infection and serum lipid, lipoprotein, and apoprotein concentrations in dogs. J Vet Intern Med. 2018; 33: 1686-1694.
- Sevgisunar NS, Şahinduran Ş.** Hayvanlarda akut faz proteinleri, kullanım amaçları ve klinik önemi. MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg. 2014, 2(1): 50-72.
- Shah SA, Sood NK, Tumati SR.** Haematobiochemical changes in natural cases of canine babesiosis. Asian J Anim Sci. 2011; 5: 387-392.
- Solano-Gallego L, Baneth G:** Babesiosis in dogs and cats-expanding parasitological and clinical spectra. Vet Parasitol. 2011; 181: 48-60.
- Sudhakara Reddy B, Sivajothi S, Varaprasad Reddy LS, Solmon Raju KG.** Clinical and laboratory findings of Babesia infection in dogs. J Parasit Dis. 2016; 40: 268-272.
- Tothova C, Nagy O, Kovac G.** Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review. Veterinarni Medicina. 2014; 59: 163-180.

- Tuna GE, Ulutaş B.** Hastalıkların biyobelirteçleri olarak akut faz proteinleri. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics. 2015; 1: 8-19.
- Ulutaş B, Bayramlı G, Alkim Ulutaş B, Karagenç T.** Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine abesiosis: A preliminary study. Vet Clin Pathol. 2005; 34:144-147.
- Ulutaş PA, Ulutaş B, Sarierler M, Bayramlı G.** Serum haptoglobin and ceruloplasmin concentrations in dogs with various diseases. İstanbul Üniv Vet Fak Derg. 2007; 33: 35-42.