

Babesia ovis ile enfekte koyunlarda eritrositlerdeki glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi*

Elif Yörük^a Ferda Belge^b

^aFevzi Çakmak İlköğretim Okulu, Van, TÜRKİYE

^bYüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Özet: Babesiosis, yaz aylarında koyunlar arasında sıkça rastlanan, kenelerle nakledilen ve hemolitik anemiye neden olan protozoer bir hastalıktır. Bu çalışma ile Babesia ovis ile enfekte koyunlarda eritrositlerdeki G-6-PD aktivitesinin saptanması amaçlandı. Bu nedenle 1-3 yaşlı 10 adet sağlıklı ve 20 adet enfekte koyunların V.jugularislerinden alınan kan örnekleri kullanıldı. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere konuldu. Hematokrit tayininde Mikro hematokrit yöntem kullanıldı. Hemogloblin miktarının tayini Oksi -hemogloblin yöntemiyle saptanırken G-6-PD aktivitesinin tayini ise ticari kitle belirlendi.Kontrol ve deneme grubu arasında hemogloblin ve hematokrit değer açısından P<0.001, G-6-PD aktivitesi açısından ise P<0.01 düzeyinde istatistiksel anlam saptandı.

Anahtar Kelimeler: Babesia ovis, G-6-PD, Hematokrit, Hemogloblin.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes of sheep infected with Babesia ovis

Abstract: Babesiosis is a protozoer disease that causes hemolytic anemia in sheep during summer months, and transported by tick. The aim of this study was to determine the glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) activity in the erythrocytes of sheep infected with babesiosis. Blood samples taken from V. jugularis of 10 healthy and 20 infected sheep, 1-3 years old, were used. Microhaematocrit method was used to determine haematocrit value while oxihemoglobin method was used to determine the amount of hemoglobin. G-6-PD activity was determined by using special kit. There was a statistical (P<0.001) difference between the hemoglobin and hematocrit values of infected and control groups. There was also statistical difference (P<0.01) between the G-6-PD activity of control and infected groups.

Keywords: Babesia ovis, G-6-PD, Hematocrit, Hemoglobine.

GİRİŞ

Babesiosis; kenelerle nakledilen, febris, hemolitik anemi,ikterus ve hemogloblinuri ile karakterize, tropik ve subtropik bölgelerde önemli ekonomik kayıplara neden olan protozoer bir hastalıktır (1, 2). Babesia türleri omurgalı hayvanların kanında eritrositler içersinde yaşayan tek hücreli heteroxen parazitlerdir (3, 4).

Göksu (5), yerli koyunlarımızda, Babesia ve Theileria türlerinin epizootiyolojisi üzerinde yaptığı çalışmada, B.ovis'le enfekte koyunların perifer kanlarında, enfekte eritrositlerin oranının %15-20'yi geçmediğini, buna karşılık iç organlardan en fazla

parazit taşıyan organın karaciğer olduğunu ve bu organda bulunan eritrositlerin %30-40'nun parazitle enfekte bulunduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı (5), yerli koyunlarda Babesiosis'e sebep olan başlıca türün B.ovis olduğunu; B.motasi'e ise daha az rastlandığını, enfekte koyunları her mm³ kanındaki eritrosit sayısının ve hemogloblin miktarının normalin altına düştüğünü ifade etmiştir.

Khalacheva ve Mechenova (6), B. ovis'le enfekte, dalağı çıkartılmış koyunlarda yapmış oldukları biyokimyasal ve hematolojik araştırmalarda eritrosit, hemogloblin ve hematokrit değerinin düştüğünü, buna karşılık üre ve bilirubin miktarının arttığını gözlemlemişlerdir.

* Aynı adlı yüksek lisans tezinin özetidir.

B. ovis ile enfekte koyunlarda yapılan bir diğer çalışmada ise (2), hasta hayvanlarda alyuvar sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit değerinde azalma saptanırken, akyuvar sayısında artma tespit edilmiştir.

Voyvoda ve arkadaşları (1), Babesia ovis enfeksiyonunda hafif-orta şiddette hemolitik bir anemi saptandığını, buna bağlı olarak hemoglobin miktarı ve hematokrit değerinde bir düşüş gözlemlediklerini bildirmektedirler.

Babesia ve Plasmodium türleri vertebraların eritrositlerinde bulunan parazit konaklardır ve bunun için benzer metabolik davranışlara sahip oldukları tahmin edilmektedir. Ayrıca B. rodhaini ile enfekte kan hücrelerinde retikülosit yüzdesinin ve retikülositlerin metabolik aktivitelerinin artarak irileştikleri bildirilmektedir (7).

B. bovis ile enfekte eritrositlerde ATP miktarı artar. Normal eritrositlerde bu miktar oldukça azdır. Enfekte eritrositlerde glikoz ve O₂ tüketimi ortalama % 4.6 ise de enfekte olmayan eritrositlerde % 2.5 dan daha azdır. Enfekte eritrositlerde laktat üretilir, fakat normal eritrositlerde laktat üretimi sürekli değildir. Sonuç olarak glikolitik oran (laktat üretimi / glikoz tüketimi) enfekte eritrositlerde normal eritrositlerin yedi katından daha fazladır (8).

Son zamanlarda sıtma parazitleri P. falciparum ve P. yoelli ile Babesia türlerinin eritrositler içerisindeki nükleosid transportunda değişiklikler meydana getirdiği kanıtlanmıştır (9).

MATERYAL VE METOT

Çalışmada materyali, doğal şartlarda enfekte olmuş 1-3 yaşlı 20 adet babesiosisli ve Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Araştırma Çiftliğinde bulunan 10 adet sağlıklı toplam 30 adet koyunun v. jugularis'lerinden alınan kan örnekleri oluşturdu.

Alınan kan örneklerinden frotiler hazırlandı, Giemsa ile boyandı. Hazırlanan frotiler, B. ovis'in varlığı açısından mikroskop altında incelendi (10). Hematokrit tayininde mikrohematokrit yöntem kullanıldı (11). Hemoglobin miktarı oksî-hemoglobin yöntemiyle saptandı (12). Eritrositlerdeki G-6-PD aktivitesinin tayini için Randox firmasından temin edilen kitler kullanıldı (13).

Elde edilen veriler t testi ile değerlendirildi (14).

BULGULAR

Babesiosisle doğal enfekte olduğu klinik muayene ile belirlenen koyunlardan hazırlanan tüm frotilerin mikroskopik incelenmesinde B. ovis görülürken, kontrol grubunun hiç birisinde B. ovis görülmedi.

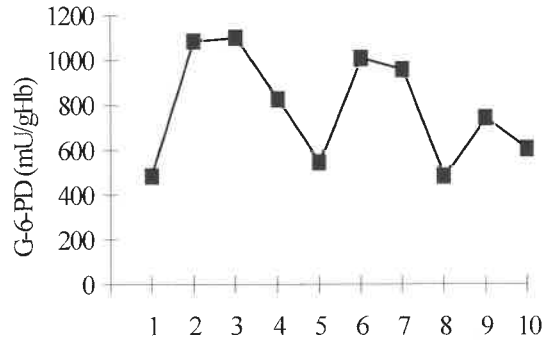
Enfekte ve sağlıklı koyunlardan alınan kan örneklerinde belirlenen hemoglobin miktarı, hematokrit değer ve G-6-PD değerleri Tablo.1'de sunuldu. Ayrıca G-6-PD değerleri Şekil 1, 2 'de gösterildi.

Sağlıklı ve enfekte hayvanlardan elde edilen sonuçlara göre sırasıyla, hemoglobin miktarları 10.90 ± 0.28 g/dl, 7.15 ± 0.15 g/dl; hematokrit değerleri % 37.40 ± 0.59, % 24.10 ± 0.49; G-6PD değerleri ise 784.44 ± 77.76 mU/gHb, 344.16 ± 16.21 mU/gHb olarak saptandı.

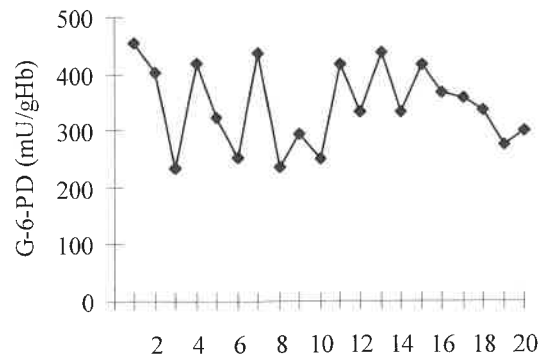
Tablo 1. Sağlıklı ve enfekte hayvanlarda Hb, Hc, G-6PD Değerleri

Parametre	Sağlıklı n=10 x ± SE	Enfekte n=20 X ± SE
Hemoglobin (g/dl)	10.90 ± 0.28	7.15 ± 0.15*
Hematokrit (%)	37.40 ± 0.59	24.10 ± 0.49*
G-6-PD (mU/gHb)	784.44 ± 77.76	344.16 ± 16.21**

* : P<0.001, ** : P<0.01



Şekil 1. Sağlıklı koyunlarda G-6-PD değerleri



Şekil 2. Enfekte koyunlarda G-6-PD değerleri.

Enfekte ve sağlıklı hayvanlara ait hemoglobinin, hematokrit ve G-6-PD değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Enfekte grupta kontrol grubuna göre bir düşüş olduğu saptandı. Gruplar arasındaki farkların hemoglobinin ve hematokrit değerinde $P < 0.001$, G-6-PD'da ise $P < 0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Fizyolojik şartlarda eritrositler sürekli olarak süperoksit radikali (O_2^-) gibi oksidanlara maruz kalırlar. Bununla birlikte bazı enzim sistemleri bu oksidatif hasara karşı koruyucu bir mekanizma geliştirmişlerdir. Bu enzimlerden başlıcaları glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) dır. Ayrıca G-6-PD ve 6-PGD hücre hasarında eritrositleri koruyucu role sahip enzimlerdir (15).

İnsan, tavşan, sığır, köpek ve atta yaştaki artış ile enzim aktivitelerindeki artışın paralel seyrettiği buna karşın erişkin koyunların eritrositlerindeki enzim aktivitelerinin gençlerdekinden daha düşük olduğu bildirilmektedir. Enzim aktivitelerindeki türe özgü değişimlerin büyük bir olasılıkla eritrositlerin yaşam süreleri ve aynı zamanda biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri ile ilgili olduğu sanılmaktadır (16).

G-6-PD, glukoz-6-fosfatın, 6-fosfoglukonata oksidasyonunu katalize eden pentoz fosfat yolundaki ilk enzimdir. Cheun (17), koyun ve keçilerin diğer hayvan türlerine nazaran bu enzim açısından belirgin bir şekilde eksiklik gösterdiklerini bildirmektedir. Fakat bu eksikliğin hiç bir problem oluşturmadığı ve oksidatif stresle beraber seyreden hemolitik anemiler hariç iyi bir şekilde tolere edilebildiği görüşü de ileri sürülmektedir. (18).

Babesiosisde eritrositlerdeki hemoliz sonucu; alyuvar sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit değerinde azalma meydana geldiği ifade edilmektedir (1, 2, 5, 6). Sunulan çalışmada da bu çalışmaları destekler şekilde hemoglobin miktarı ve hematokrit değerinde babesiosisli koyunlarda kontrol grubuna göre azalma olduğu saptandı ($P < 0,001$). Bu durum B. ovis enfeksiyonunda hemolitik bir anemi geliştiğini ve buna bağlı olarak da hemoglobin miktarı ve hematokrit değerinde azalma olduğunu göstermektedir.

Suzuki ve arkadaşları (15), farklı hayvan türlerinde eritrositlerdeki enzim aktivitesini inceledikleri çalışmalarında, G-6-PD aktivitesinin en yüksek olduğu hayvanın rat (19.36 IU/gHb), en düşük olduğu hayvanın ise koyun (0.97 IU/gHb) olduğunu bildirmektedirler. Kuzuların kanında G-6-PD aktivitesi üzerinde yapılan bir çalışmada ise (19), bu enzimin Karacabey Merinosu kuzularda ortalama

olarak 3.67 U/gHb, Akkaraman kuzularda 3.06 U/gHb düzeyinde olduğu saptanmıştır.

Sağlıklı koyunların eritrositlerindeki G-6-PD enzim aktivitesini Cheun (17), 1.2 U/gHb; Golan ve Szeinberg (20) 0.4 -1.2 U/gHb; Agar ve ark. (21), 0.42 U/gHb; Herz ve ark. (22) 1.0-2.0 U/gHb olarak bildirmektedirler.

Koyunlarda kronik bakır zehirlenmesinde peroksidatif hasar ve serbest radikallerin artışına bağlı olarak hemolitik bir anemi meydana geldiği ve G-6-PD aktivitesinde de azalma şekillendiği bildirilmektedir (18).

Agar ve ark. (16), anemiye bağlı olarak G-6-PD aktivitesinde başlangıçta bir azalma daha sonra ise bir artma ve bunu takiben yeniden bir düşme meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Çalışmada G-6-PD aktivitesi sağlıklı koyunlarda 784.44 mU/gHb, enfekte koyunlarda 344.16 mU/gHb olarak saptandı. Sağlıklı hayvanlarda bulunan bu değer, Suzuki ve ark. (15) ile Cheun (17)'un bildirdikleri değerlerden düşük, Agar ve ark. (21)'nin bildirdikleri değerden yüksek bulunmuştur.

Enfekte koyunlarda tespit edilen değer ise (344.16 mU/gHb), anemilerde G-6-PD aktivitesinin azaldığını bildiren çalışmalarla (16, 18) aynı görüşü doğrular niteliktedir. Buna rağmen hem B. ovis ile enfekte, hem de anemili hayvanlarda G-6-PD enzim aktivitesi ile ilgili yeterince literatür elde edilemediği için sağlıklı bir karşılaştırma olanağı bulunamadı. Fakat yapılan bu çalışmada enfekte eritrositlerde G-6-PD aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.001$) bir düşüş saptandı.

G-6-PD enziminin noksanlığı, bir tip hemolitik anemi ile sonuçlanan eritrosit hemolizinin esas nedenlerini meydana getirir. Hemoliz sonucunda eritrositlerde bulunan bütün bileşikler ortama dağılmakta, geriye çözünmeyen membran yapısı ile buna bağlı proteinler kalmaktadır. G-6-PD aktivitesi düşük olan eritrositler yükseltgenmiş glutatyonu hızla indirgeyemediklerinden ve artan süperoksit radikallerine karşı koruyamadıkları için hemoliz olmaktadır. Hemoliz sonucunda eritrositlerin metabolik aktiviteleri bozulmakta ve iyon dengesinin sağlanmasına yönelik enerjinin üretilmesi gerçekleşmektedir.

Sonuç olarak, B. ovis enfeksiyonuna bağlı olarak bir anemi meydana geldiği, eritrositlerdeki bu yıkıma bağlı olarak da eritrosit metabolizmasında önemli yeri olan G-6-PD enzim düzeyinde bir azalma şekillendiği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Voyvoda H, Sekin S, Kaya A, Bildik A: Koyunların doğal Babesia ovis enfeksiyonunda serum, demir, bakır konsan-

- trasyonu (Fe,Cu), total ve latent demir bağlama kapasitesi (TDBK, LDBR) ve transferrin doyumu (TD modifikasyonlar). J Vet Anim Sci 21: 31-37, (1997).
2. Taşcı S, Ağaoğlu Z, Yur F, Çamaş H: Babesia ovis'le enfekte koyunlardaki kan parametreleri ile fosfolipid ve kolesterol seviyesindeki değişiklikler. YYÜ Vet Fak Derg 3 (1-2): 107-115, (1992).
 3. Ristic M: Babesiosis in Diseases of Cattle in the Tropic. Et By: M. Ristic., Mc. Intyre. Martinus Publishers, The Hague 443-468, (1981).
 4. Soulsby E.J.L: Helminths, Artropods and Protozoa of Domesticated Animals, Bailliere, Tindall and Cassell, London, (1982).
 5. Göksu K: Yerli koyunlarımızda Babesiade ve Theileridae'lerin epizootiyolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar. AÜ Vet Fak 205 Çalışmalar: 107, (1967).
 6. Khalacheva M, Mechenova E: Haematological and biochemical investigations of splenectomized sheep infected with Babesia ovis. Veterinaromeditsinski Nauki 13 (8): 48-55, (1976).
 7. Rickard M. D: Carrbonhydrate metabolism in Babesia rodhaini: differences in the metabolism of normal and infected rat erythrocytes. Exp Parasit 25:16-31, (1969).
 8. Barry D.N: Metabolism of Babesia parasites in vitro glucose and energy metabolism of B. bovis. Aust J Exp Biol Med Sci 62 (1): 53-61, (1983).
 9. Gera A.M, Wood A.M, Houge L.D, Uspston M.J: Effect of diamide on nucleoside and glucose transport in Plasmodium falciparum and Babesia bovis infected erythrocytes. Mol Biochem Parasit 44: 195-206, (1991).
 10. Özcel M.A, Altıntaş N: Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 15. İzmir, (1997).
 11. Konuk T: Pratik Fizyoloji, AÜ Basımevi, Ankara. (1981).
 12. Yılmaz K, Otlu A: Veteriner Hematoloji El Kitabı. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, (1989).
 13. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase test for in vitro diagnostic use: Randox Laboratories Ltd. United Kingdom, (1997).
 14. Heperkan Y: Tıpta İstatistik Yöntem ve Uygulamaları. AÜ Tıp Fak Yay. Sayı 415. Ankara, (1981).
 15. Suzuki T, Agar N.S, Suzuki M: Red cell metabolism; A comparative study of some mammalian species. Comp Biochem Physiol 79 B (4): 515-520, (1984).
 16. Agar N.S, Roberts J, Mulley A, Board PG, Harley JD: The effect of experimental anaemia on the levels of glutathione and glycolytic enzymes of the erythrocytes of normal and glutathione deficient merino sheep. Aust J Biol Sci 28: 233-238, (1975).
 17. Cheun LH: Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes of experimental animals. J Clin Path 19: 614-616, (1966).
 18. Sansinanea A.S, Ceronne S.I, Elperding A, Auza N: Glucose -6-Phosphate Dehydrogenase activity in erythrocytes from chronically copper-poisoned sheep. Comp Biochem Physiol 114 C (3): 197-200, (1996).
 19. Çamaş H, Ergün H: Kuzuların kanında methemoglobin ve vitamin C değerleri ile glikoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi üzerinde araştırmalar. UÜ Vet Fak Derg 1-2-3 (4): 35-41, (1985).
 20. Golan R, Szeinberg A: Immunochemical study of relationships between erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase of various mammalian species. Comp Biochem Physiol 45 B: 499-508, (1973).
 21. Agar N.S, Gruca M, Harley J.D: Studies on glucose-6-phosphate dehydrogenase, glutathione reductase and regeneration of reduced glutathione in the red blood cells of various mammalian species. Aust J Exp Biol Med Sci 52 (4): 607-614, (1974).
 22. Herz F, Kaplan E, Gleiman E.J: Acetylcholinesterase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in erythrocytes of fetal, neuborn and adult sheep. Proc Soc Exp Bio Med 124 (4): 1185-1187, (1967).

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Ferda Belge
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Van, TÜRKİYE

e-mail: ferdabelge@hotmail.com