

Babesiosis'li köpeklerde tedavi öncesi ve sonrası haptogloblin, seruloplazmin ve bazı biyokimyasal parametrelerin seviyelerinin belirlenmesi

Ekin Emre ERKILIÇ^{1*}

¹Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

Geliş Tarihi: 14.02.2019

Kabul Tarihi: 29.05.2019

Özet: Bu çalışmada babesiosis ile doğal enfekte köpeklerde tedavi öncesi ve sonrası haptogloblin (Hp), seruloplazmin (Cp) ve bazı biyokimyasal parametrelerin seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın hayvan materyalini, iştahsızlık, ikterus ve hemoglobüri şikayetleri olan farklı yaş ve cinsiyette 10 köpek oluşturdu. Klinik muayeneler ve Giemsa boyama sonrasında eritrositler içerisinde etkenlerin görülmesi ile tanı kondu. Tanı sonrasında tedavi öncesi ve sonrası hayvanlardan kan alınarak serumları ayrıştırıldı. Bu serumlarda Alanin aminotransferaz (ALT) ve Aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktiviteleri, Hp, Cp, üre ve kreatinin seviyeleri belirlendi. Tedavi öncesi ALT (P<0.05) ve AST (P<0.05) enzim aktiviteleri ile üre (P<0.05), kreatinin (P<0.05) ve Cp (P<0.001), seviyeleri tedavi sonrasına göre yüksek belirlendi. Hp seviyesi ise tedavi öncesinde tedavi sonrasına göre düşük bulundu (P<0.001). Sonuç olarak Babesiosis'li köpeklerde ALT ve AST enzim aktiviteleri ile üre, kreatinin, Hp ve Cp seviyelerinde önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. Köpeklerde babesiosis hastalığının prognozunda ve tedavi sürecinde bu parametrelerin takibinin önemli olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Köpek, Babesiosis, Haptogloblin, Seruloplazmin.

Determination of haptoglobin, ceruloplasmin and some biochemical parameters before and after treatment in dogs with babesiosis

Abstract: In this study, it was aimed to determine haptoglobin (Hp), ceruloplasmin (Cp) and some biochemical parameters levels before and after treatment in dogs naturally infected with babesiosis. Animal material of the study consisted of 10 dogs of different age and sex. There were icterus, hemoglobinuria and lack of appetite in dogs. After clinical examination and Giemsa staining, disease was diagnosed by the presence of agents in erythrocytes. After diagnosis, blood samples were taken from animals before and after treatment and sera was separated. In these sera, Alanine Aminotransferase (ALT) and Aspartate Aminotransferase (AST) enzyme activities, Hp, Cp, urea and creatinine levels were determined. Pre-treatment ALT (P<0.05) and AST (P<0.05) enzyme activities, urea (P<0.05), creatinine (P<0.05) and Cp (P<0.001) levels were determined higher than post-treatment. Pre-treatment Hp level was determined lower compared to post-treatment level (P<0.001). As a result, significant changes in ALT and AST enzyme activities, urea, creatinine, Hp and Cp levels were determined in dogs with Babesiosis. It was concluded that follow-up of these parameters may be important in the prognosis and treatment process of the disease in dogs.

Keywords: Dog, Babesiosis, Haptogloblin, Ceruloplasmin.

Giriş

Köpeklerde babesiosis dünyada yaygın olarak görülen, evcil ve yabani karnivorları enfekte eden (Sudhakara Reddy ve ark., 2016), keneler tarafından bulaştırılan bir hastalıktır (Baneth, 2018; Eichenberger ve ark., 2016; Gökçe ve ark., 2012; Ulutaş ve ark., 2005). Köpeklerde babesiosise neden olan türler morfolojilerine göre sınıflandırılmıştır. Büyük olan türler içerisinde *Babesia canis*, *B. vogeli*, *B. rossii*, küçük olan türler içerisinde ise *Babesia gibsoni*, *B. conradae*, ve *B. microti-like (Theileria annae)* yer almaktadır (Aysul ve ark., 2013). Etkenler eritrositlerin içerisine yerleşmekte olup görünüşleri armut şeklindedir (Sudhakara Reddy ve ark., 2016). *Babesia* türlerinin patojenitelerindeki farklılıklar, parazitemi derecesi, immunolojik yanıt, köpeğin yaşı ve başka bir enfeksiyonla birlikte seyretmesi gibi durumlarda hastalığın klinik tablo ve seyri etkilenmektedir (Ulutaş ve ark., 2005). Babesiosis'te

genellikle klinik olarak, ateş, anoreksi, depresyon, hemoglobüri, kusma, ikterus ve anemi meydana gelmektedir (Shah ve ark., 2011).

Doğuştan gelen savunma sisteminin bir parçası olarak kabul edilen akut faz cevap doku hasarından kısa bir süre sonra meydana gelen, nonspesifik ve kompleks durumu ifade etmektedir. Akut faz cevap sırasında plazma proteinlerinin seviyelerinde değişiklik meydana gelmektedir. Bu plazma proteinleri akut faz proteinler olarak adlandırılmaktadırlar (Ceron ve ark., 2005).

Haptogloblin (Hp) karaciğer tarafından sentezlenmekte olup en önemli fonksiyonu hemoglobini bağlayarak hemoglobin ile oluşturduğu kompleksler sonrasında demir kaybının önüne geçmesidir (Cray 2012; Tuna ve Ulutaş, 2015). Aynı zamanda Hp bakteriyel büyüme için demire gereksinim duyan mikroorganizmaların

kullanabileceği demir miktarını kısıtlayarak bakterisidal etki göstermektedir (Ceron ve ark., 2005; Tuna ve Ulutaş, 2015). Köpeklerde yangı, travma ve enfeksiyon durumlarında seviyesinde artışlar meydana gelmektedir (Mcgrotty ve ark., 2003).

Seruloplazmin (Cp) köpeklerde pozitif akut faz proteinlerindedir (Ceron ve ark., 2005) ve primer olarak karaciğerden sentezlenmektedir (Murata ve ark., 2004). Serbest serum bakırını bağlamakta, yangısal olaylarda serbest demirin neden olacağı hasarlara karşı koruyucu rol oynamaktadır (Cray, 2012) ve plazma antioksidanı olarak kabul edilmektedir (Tuna ve Ulutaş, 2015). Aynı zamanda anti-enflamatuvar olarak da görev alan Cp bunu endotele bağlanan nötrofil sayısını azaltarak gerçekleştirmektedir (Murata ve ark., 2004).

Bu çalışmada babesiosis ile doğal enfekte köpeklerde tedavi öncesi ve sonrası Hp, Cp ve bazı biyokimyasal parametrelerin seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

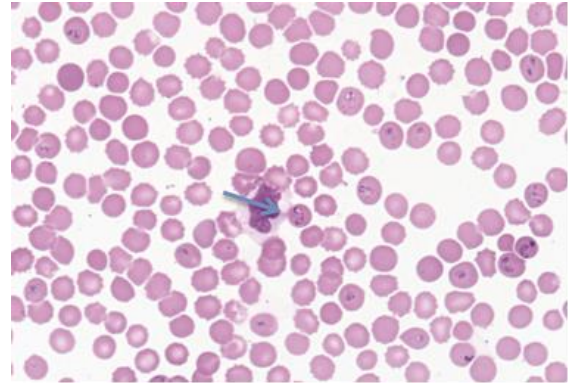
Materyal ve Metot

Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan (KAÜ-HADYK/2018-096) onay alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışmanın hayvan materyalini, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı kliniklerine iştahsızlık, ikterus ve hemoglobinüri şikayetleriyle getirilen farklı yaş ve cinsiyette 10 köpek oluşturdu. Kesin tanı klinik muayeneler ve sürme frotilerin Giemsa yöntemi ile boyanması sonrasında eritrositler içerisinde etkenlerin görülmesi ile kondu. Kesin tanı konan hayvanların *V.cephalica antebraehii*'lerinden tedavi öncesi ve tedavi sonrası (klinik bulguların normalleşmesi) serum tüplerine 5'er mL (sarı kapaklı, jelli, Vacutest®, İtalya) kan alındı. Bu kanlar 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Elde edilen serumlar analiz aşamasına kadar -20°C'de bekletildi. Bütün numuneler toplandıktan sonra serumlarda Hp, Cp, ALT, AST, üre ve kreatinin değerleri ölçüldü. ALT, AST, üre ve kreatinin ölçümleri Mindray BS120 cihazında ölçüldü. Hp Batchelor ve ark. (1989), Cp ise Colombo ve Ricterich (1964)'in bildirdikleri metoda göre kolorimetrik olarak ölçüldü. Çıkan sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Tanı konulan hayvanlara, 6 mg/kg imidokarb dipropionat (Tek doz, İmicarp, Teknovet), 3 mL Berovit B12 (5 gün, Vitamin B1 5 mg, Vitamin B2 2 mg, Vitamin B6 2 mg, Vitamin B12 4 µg, Nikotinamid 20 mg, D-Pantenol 10 mg içerir, Ceva), 2 mL İnjacom-C (5 gün, C vitamini, Ceva) kas içi (İM) yolla uygulandı. Ayrıca hayvanlara intravenöz yolla (IV) sıvı (%5 dektroz ve %0.9 izotonik NaCl) verildi. İstatistiksel analizler

SPSS® 18.0 programı kullanılarak yapıldı (SPSS 18, USA). Analizler sonrasında elde edilen sonuçlara normalite testi yapıldı. Normal dağılım gösteren veriler için Paired-Samples T testi yapılırken, normal dağılım göstermeyen veriler için Wilcoxon testi yapıldı. P değeri 0.05'ten küçük olanlar istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Tüm sonuçlar ortalama±standart hata olarak verildi.

Bulgular

Klinik ve biyokimyasal bulgular: Hasta hayvanlarda klinik olarak iştahsızlık, halsizlik, hemoglobinüri, mukoz membranlarda solgunluk ve ikterus tespit edildi. Perifer kandan sürme frotiler hazırlandı. Giemsa boyama ile eritrositlerin içerisinde babesia etkenleri görüldü (Şekil 1).



Şekil 1. Babesia etkenlerinin mikroskopik görüntüsü (80X).
(→ : Babesia etkeni)

Tedavi öncesinde hayvanların ALT (P<0.05) ve AST (P<0.05) enzim aktiviteleri ile üre (P<0.05) ve kreatinin (P<0.05) seviyelerinin tedavi sonrasına göre anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlendi (Tablo 1). Haptoglobin seviyeleri tedavi öncesinde 0.376±0.036 g/L, tedavi sonrasında 1.382±0.017 g/L olarak tespit edildi. Meydana gelen bu değişimin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi (P<0.001) (Tablo 1). Seruloplazmin seviyeleri ise tedavi öncesinde 9.241±0.55 mg/dL olarak belirlenirken, bu seviyenin tedavi sonrasında 4.478±0.29 mg/dL' ye düştüğü görüldü

Tablo 1. Babesiosis'li köpeklerde bazı serum biyokimyasal parametrelerin tedavi öncesi ve sonrası değişimi.

Parametreler	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	P Değeri
	X±SE	X±SE	
Hp g/L	0.376±0.036	1.382±0.017	P<0.001
Cp mg/dL	9.241±0.55	4.478±0.29	P<0.001
ALT U/L	45.74±12.17	20.47±4.29	P<0.05
AST U/L	105.76±21.57	27.37±10.26	P<0.05
Kreatinin mg/dL	1.96±0.22	1.59±0.14	P<0.05
Üre mg/dL	73.04±13.72	47.27±7.63	P<0.05

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası belirlenen seviyeler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($P < 0.001$) (Tablo 1).

Tartışma ve Sonuç

Babesiosis farklı Babesia türleri tarafından oluşturulan dünyada yaygın görülen bir hastalıktır (Furlanello ve ark., 2005). Hastalık eritrositlerin parçalanması sonrasında şiddetli sistemik bozukluklara neden olmaktadır (Solano-Gallego ve Baneth, 2011). Babesiosis'te miyozitis, böbrek yetmezliği ve hepatopati gibi çoklu organ bozukları meydana gelebilmektedir (Gökçe ve ark., 2013) Hastalıkta meydana gelen klinik bulguların birçoğunu hem eritrositlerin yıkılmanması sonrasında gelişen hemolitik anemi hem de oluşan yangısal cevap meydana getirmektedir (Baneth, 2018). Bu çalışmada klinik olarak iştahsızlık, halsizlik, hemoglobüri, mukoz membranlarda solgunluk ve ikterus tespit edilmiş olup bulgular Sudhakara Reddy ve ark. (2016)'nın çalışması ile benzerlik göstermektedir.

Veteriner hekimlikte biyokimyasal parametreler hayvanların klinik olarak değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Biyokimyasal parametrelerin yardımı ile hem fizyolojik durum hem de meydana gelen patolojiler ile ilgili fikir edinilebilir (Çınar ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarda Babesia ile enfekte köpeklerde ALT (Gonde ve ark., 2017; Sudhakara Reddy ve ark., 2016; Zamoks ve ark., 2014) ve AST (Zamoks ve ark., 2014) enzim aktivitelerinin sağlıklılara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sunulan çalışmada da benzer şekilde hasta hayvanlardaki tedavi öncesi ALT ve AST enzim aktiviteleri tedavi sonrasına göre yüksek olduğu belirlendi. ALT ve AST enzim aktivitelerindeki yükselmenin karaciğer hasarına bağlı olarak şekillendiği düşünüldü.

Zamoks ve ark. (2014) babesia ile enfekte köpeklerde plazma üre ve kreatinin seviyelerinin sağlıklı köpeklere göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Babesiosisli köpeklerde yapılan diğer çalışmalarda hasta hayvanlardaki kreatinin seviyesinin sağlıklılara göre yüksek olduğu belirtilmiştir (Gonde ve ark., 2017; Sudhakara Reddy ve ark., 2016). Bildirilen çalışmalar ile uyumlu olarak bu çalışmada da serum üre ve kreatinin seviyelerinin tedavi öncesinde, tedavi sonrasına göre yüksek ($P < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Üre ve kreatinin seviyesinin tedavi öncesinde yüksek olması böbreklerde meydana gelen hasarın sonucu olarak şekillendiği belirlendi.

Akut faz proteinleri yangı, travma, stres, neoplazi gibi durumlarda artış göstermektedir ve bu nedenle önemli biyo-belirteçler olarak ifade edilmişlerdir (Cray, 2012). Pozitif akut faz proteinleri

içerisinde yer alan Hp ve Cp'in akut faz cevap sonrasında seviyelerinde artışlar meydana gelmektedir (Ceron ve ark., 2005). Cray (2012) Hp'nin serbest hemoglobini bağladığını ve oluşan Hp-hemoglobin komplekslerinin makrofajlarca fagosite edildiğini bildirmiştir. Kocatürk ve ark. (2010) parvoviral enteritisli köpeklerde Hp seviyesinin sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada dışkıında *Ancylostoma sp.* yumurtası bulunan köpeklerde Hp seviyesinin sağlıklı köpeklere göre yüksek olduğu rapor edilmiştir (dos Santos Schmidt ve ark., 2015). Bu çalışmaların aksine Ulutaş ve ark. (2007) ve Ulutaş ve ark. (2005) babesiosis'li köpeklerde Hp seviyesinin sağlıklı köpeklere göre düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda da babesiosis'li köpeklerde tedavi öncesi Hp seviyesinin tedavi sonrasına göre düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Tedavi öncesi Hp seviyesinin düşük olmasının Babesiosis'te meydana gelen hemoliz ile ilişkili olduğu düşünüldü.

Seruloplazmin köpeklerde pozitif akut faz proteinlerindedir (Ceron ve ark., 2005). Yapılan çalışmalarda Cp seviyesi dışkıında *Ancylostoma sp. yumurtası bulunan köpeklerde* (dos Santos Schmidt ve ark., 2015), parvoviral enteritis (Kocatürk ve ark., 2010) ve babesiosis'li köpeklerde (Ulutaş ve ark., 2005; Ulutaş ve ark. 2007) sağlıklı köpeklere göre yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda da bu çalışmalar ile uyumlu olarak enfekte köpeklerde tedavi öncesi Cp seviyesinin tedavi sonrasına göre anlamlı yüksek olduğu belirlendi. Hasta hayvanlarda Cp seviyesinin yüksek olmasının meydana gelen yangısal değişikliklerle ilgili olduğu düşünüldü.

Sonuç olarak Babesiosis'li köpeklerde ALT ve AST enzim aktiviteleri ile Hp, Cp, üre ve kreatinin seviyelerinde önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. Hastalığın prognozunda ve tedavi sürecinde bu parametrelerin takibinin önemli olabileceği kanaatine varıldı.

Teşekkür

Çalışmanın biyokimyasal analizlerin yapılmasında destek olan Doç. Dr. Oğuz MERHAN'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Aysul N, Ural K, Ulutaş B, Eren H, Karagenç T, 2013: First detection and molecular identification of Babesia gibsoni in two dogs from the Aydın province of Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 37, 226-229.
- Baneth G, 2018: Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. *Vet Parasitol*, 254, 58-63.
- Batchelor J, Fuller J, Woodman DD, 1989: A simple method for measurement of the haemoglobin

- binding capacity of canine haptoglobin. *Lab Anim*, 23, 365-369.
- Ceron JJ, Eckersall PD, Martı́nez-Subiela S, 2005: Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol*, 34, 85-99.
- Colombo JP, Richterich R, 1964: Zur bestimmung des ceruloplasmin im plasma [on the determination of ceruloplasmin in plasma]. *Schweiz Med Wochenschr*, 94, 715-720.
- Cray C, 2012: Acute phase proteins in animals. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 105, 113-150.
- Çınar M, Erat S, Arıkan Ş, Mamak N, Oğrak YZ, Güzel M, 2010: Kangal köpeklerinde bazı biyokimyasal parametreler üzerine yaş ve cinsiyetin etkisi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 7, 109-116.
- dos Santos Schmidt EM, Rubio CP, dos Santos GJ, Barbosa L, da Motta Santos TF, de Cezaro MC, 2015: Serum protein profile of hookworm infection in dogs. *Comp Clin Pathol*, 24, 1463-1466.
- Eichenberger RM, Riond B, Willi B, Hofmann-Lehmann R, Deplazes P, 2016: Prognostic markers in acute babesia canis infections. *J Vet Intern Med*, 30, 174-182.
- Furlanello T, Fiorio F, Caldin M, Lubas G, Solano-Gallego L, 2005: Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form Babesia from dogs of northeastern Italy. *Vet Parasitol*, 134, 77-85.
- Gonde S, Chhabra S, Singla LD, Randhawa CS, 2017: Clinico-Haemato-Biochemical changes in naturally occurring canine babesiosis in Punjab, India. *Malaysian J Vet Res*, 8, 37-44.
- Gökçe E, Kırmızıgül AH, Taşçı GT, Uzlu E, Gündüz N, Vatanserver Z, 2013: Türkiye’de köpeklerde Babesia canis canis’in klinik ve parazitolojik olarak ilk tespiti. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, 717-720.
- Kocaturk M, Martinez S, Eralp O, Tvarijonaviciute A, Ceron J, Yılmaz Z, 2010: Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. *J Small Anim Pract*, 51, 478-483.
- McGrotty YL, Knottenbelt CM, Ramsey IK, Reid SWJ, Eckersall PD, 2003: Haptoglobin concentrations in a canine hospital population. *Vet Rec*, 152, 562-564.
- Murata H, Shimada N, Yoshioka M, 2004: Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet J*, 168, 28-40.
- Shah SA, Sood NK, Tumati SR, 2011: Haemato-biochemical changes in natural cases of canine babesiosis. *Asian J Anim Sci*, 5, 387-392.
- Solano-Gallego L, Baneth G, 2011: Babesiosis in dogs and cats-expanding parasitological and clinical spectra. *Vet Parasitol*, 181, 48-60.
- SPSS 18: SPSS Inc., Version 18, Chicago, USA.
- Sudhakara Reddy B, Sivajothi S, Varaprasad Reddy LS, Solmon Raju KG, 2016: Clinical and laboratory findings of Babesia infection in dogs. *J Parasit Dis*, 40, 268-272.
- Tuna GE, Ulutaş B, 2015: Hastalıkların biyobelirteçleri olarak akut faz proteinleri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics*, 1, 8-19.
- Ulutaş B, Bayramlı G, Ulutaş PA, Karagenc T, 2005: Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: a preliminary study. *Vet Clin Pathol*, 34, 144-147.
- Ulutaş PA, Ulutaş B, Sarierler M, Bayramlı G, 2007: Serum haptoglobin and ceruloplasmin concentrations in dogs with various diseases. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 33, 35-42.
- Zamokas G, Grigonis A, Karvelienė B, Daunoras G, Babickaitė L, Šapalienė I, 2014: Importance of haematological changes in diagnosing canine babesiosis. *Vet Med Zoot*, 67, 94-98.

*Yazışma Adresi: Ekin Emre ERKILIÇ

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.
e-mail: ekin_emre_24@hotmail.com