

established in  
2016

# MAS JOURNAL of Applied Sciences

ISSN 2757-5675

DOI: <http://dx.doi.org/10.52520/masjaps.88>

Araştırma Makalesi

## Visceral Leishmaniasis'li Köpeklerde Serum C-Reaktif Protein Üre Kreatinin ve Toplam Protein Düzeyleri

Necmettin AKTEPE<sup>1\*</sup>, Arif ALTINTAŞ<sup>2</sup><sup>1</sup>Mardin Artuklu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

\*Sorumlu yazar: necmettinaktepe@gmail.com

Geliş Tarihi: 26.02.2021

Kabul Tarihi: 28.03.2021

### Özet

Aydın İli Kuşadası İlçesi ve Denizli İli'nin bazı köylerinde gerçekleştirilen bu çalışmada, köpek visceral leishmaniasis (VL ya da CanL) tanısında yardımcı olabileceği, prognoz ve tedavisinin takibinde önemli bilgiler verebileceği düşüncesiyle kan serum örneklerinde C-reaktif protein (CRP), üre, kreatinin ve toplam protein düzeyleri araştırılmıştır. Çalışma, VL tanısı konmuş 38 köpek (hasta) ile klinik olarak sağlıklı 22 köpek (kontrol) olmak üzere toplam 60 köpek üzerinde yürütülmüştür. Hasta köpeklerde üre ve kreatinin ortalama değerlerinde artış bulunmuş (sırasıyla  $52,95 \pm 38,73$  mg/dL ve  $1,01 \pm 0,36$  mg/dL) ve gruplar arası farkın istatistik önemli (sırasıyla  $p < 0,05$  ve  $p < 0,001$ ) olduğu hesaplanmıştır. Köpek VL olgularında serum üre ve kreatinin düzeylerinden böbrek bozukluğunun erken göstergesi olarak yararlanılmıştır. Hastalarda T-protein düzeyleri ortalaması da kontrol değerlerden yüksek (sırasıyla  $10,34 \pm 1,90$  ve  $7,87 \pm 1,15$  g/dL) bulunmuş ve gruplar arası farkın istatistik önemli olduğu hesaplanmıştır ( $p < 0,001$ ). Bağışıklık sisteminde İg'lerin artışına bağlı olduğu düşünülen bu artış prognoz için önemli olarak yorumlanmıştır. Serum CRP düzeyleri kontrol değerinin çok üzerinde (sırasıyla  $45,36 \pm 33,05$  ve  $8,03 \pm 4,34$  mg/dL) bulunmuş ve ortalamalar arası fark istatistik önemli hesaplanarak ( $p < 0,001$ ), CRP'nin köpek VL'inin iyi bir göstergesi olabileceği ve erken tanıda yardımcı bir belirteç olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Köpek visceral leishmaniasis, serum C-reaktif protein, üre, kreatinin, toplam protein

### C-reactive Protein, Urea, Creatinin and Total Protein Concentrations in Canine Leishmaniasis

#### Abstract

In the present study, we aimed to investigate the serum levels of CRP, urea, creatinin and total protein so as to support the diagnosis detect the severity of illness monitor the post-therapy period. Our study was performed in Kusadası town belonging to Aydın city and two villages of Denizli city which are endemic regions for CanL. A total of 60 dogs have been included, 38 parasitologically and/or serologically proven CanL cases and 22 healthy dogs for control, to our study. The serum levels of CRP, urea, creatinin and total protein of each dog were measured. The average value of urea and creatinin was detected to be higher when compared with control sera [urea; patient  $52,95 \pm 38,73$  mg/dL, control,  $35,68 \pm 11,40$  mg/dL ( $p < 0,05$ ); creatinin; patient  $1,01 \pm 0,36$  mg/dL, control  $0,66 \pm 0,30$  mg/dL ( $p < 0,001$ )]. The difference between two groups was statistically important. These findings show that the measurement of serum levels of urea and creatinin is useful to detect kidney failure in CanL cases. The average value of total protein was detected to be higher in CanL cases when compared with the control group (patients group;  $10,34 \pm 1,90$  g/L, and control group  $7,87 \pm 1,15$  g/L). The difference between two groups was statistically important ( $p < 0,0001$ ). This increase is an important parameter for the prognosis of the disease, and depends on the increase of circulating immunoglobulins in the blood of the patients. The serum levels of CRP were found to be increased in CanL cases when compared with the control group (patients;  $45.36 \pm 33.05$   $\mu$ g/dL, control;  $8.03 \pm 4.34$   $\mu$ g/dL). The difference between two groups was statistically important ( $p < 0,0001$ ). All these findings show that serum CRP, urea and creatinin parameters can be used as an indicator for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis.

**Keywords:** Canine leishmaniasis, C-reactive protein, urea, creatinin, total protein

## GİRİŞ

Visceral leishmaniasis (VL), dünya çapında 60 ülkede görülen, Türkiye'nin Ege ve Akdeniz Bölgelerinde endemik, diğer bölgelerde sporadik seyirli paraziter bir hastalıktır. Hastalığa Amerika, Afrika, Batı Asya ve Avrupa'nın Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerinde de endemik/sporadik olarak rastlanmaktadır. (Wilhelm, 2019). 2012'de dünya çapında yaklaşık 200.000 ila 400.000 yeni vaka meydana geldi, 2017'de ise yalnızca 50.000 ila 90.000 arasında. Bununla birlikte, insidans, her 8 ila 15 yılda bir en yüksek insidans ile döngüsel bir şekilde dalgalanır (Wilhelm, 2019) Köpek, tilki ve çakal leishmaniasis'in doğal rezervuarlarıdır. Buldukları grup nedeniyle bunlarda görülen hastalık tablosuna "canine leishmaniasis" (CanL) adı verilmektedir. (Hirve ve ark., 2017; Nieto, 2004). Bazı bölgelerde insanlar da hastalığa rezervuarlık yapabilir. CanL, üreme çağına gelmiş hemen her yaşta (en sık 4-5 yaşında ve erkek) köpeklerde görülebilmektedir ve daha sonra başka bir zirve gözlemlendiğinde 7-8 yaşına kadar azalır (Moreno ve Alvar, 2002) Hastalık; klinik şekillerine göre; kutanöz (deri leishmaniasisi=şark çıbanı), mukokutanöz leishmaniasis (MCL=Espundia) ve visceral leishmaniasis (VL=iç organlar leishmaniasisi=kala-azar) olmak üzere üç ana gruba ayrılabilir (Desjeux, 2004) Klinik olarak en ciddi şekli olan VL'in etkenleri *L. donovani* ve *L. infantum*'dur (Guessous-Idrissi ve ark., 1997) Yurdumuzda bu hastalığın etkeninin *L. infantum* olduğu yapılan izoenzim ve genetik çalışmalarla belirlenmiştir (Ozensoy ve ark., 1998) *Leishmania chagasi*, *L. infantum*'un coğrafik varyantı olarak düşünülmektedir ve Güney Amerika'da görülen VL'den sorumlu tutulmaktadır. *L. archibaldi* ise *L. donovani*'nin Sudan varyantı olarak

düşünülmektedir. Diğer türler ise (örneğin *L. tropica*) nadiren VL'ye sebep olabilir (Hommel, 1999). Omurgalı konağa geçmeden önce hayatlarının belli bir dönemini bazı Phlebotomus (kum sinekleri) türlerinde geçirmek zorunda olan etken, köpekte iki sene gibi uzun bir sürede hastalık oluşturmaktadır. Hastalığın tedavisi maliyet açısından oldukça pahalıdır. Aynı zamanda yapılan bu tedavi insanlardaki kadar da başarı sağlamamaktadır. Hastalıkta diğer bir sorun ise, klinik olarak bazı hastalıkları taklit etmesi bu nedenle gözden kaçabilmesi, tanı, prognoz ve tedavisinin izlenmesinde güçlüklerle karşılaşılmasıdır (Bianciardi ve ark., 2004). Kum sinekleri tarafından ısırılma esnasında omurgalıların derisinden inoküle edilen *Leishmania* promastigotları, deri içindeki en yakın makrofajlar tarafından fagosite edildikten sonra amastigot formuna dönüşmekte, bu bölgede haftalarca, hatta aylarca sessiz olarak kalabilmektedirler. Zaman içinde, özellikle konağın immun sisteminin herhangi bir nedenle zayıflaması durumunda, kan dolaşımına karışan makrofajlar beraberinde bu amastigotları da çeşitli dokulara taşımaktadırlar. Dalak, karaciğer, kemik iliği, lenf nodülleri, intestinal lenfatik dokular, submukoza ve diğer RES organları ilk etkilenen dokular arasında yer alır (Kaye ve Scott, 2011). Köpeklerde VL'in başlıca klinik belirtileri olarak deri lezyonları, kilo ve iştah kaybı, lokal ya da genel lenfadenopati, göz lezyonları, burun kanaması, eklem hastalıkları ve topallık, anemi, böbrek yetmezliği, ishal ve ascites sayılmaktadır (Ferrer, 1999; Maia ve Campino, 2008) Köpek VL'de başlıca laboratuvar bulguları olarak poliklonal hiperglobulinemi, hipalbuminemi, karaciğer enzimlerinde artış, non-rejeneratif anemi, lökopeni, trombositopeni, proteinüri, kanda üre ve

kreatinin artışından söz edilmektedir (Tosun ve ark., 2001; Travi, Cordeiro-da-Silva, Dantas-Torres, ve Miró, 2018). Lipaz ve amilaz enzimlerinin serumdaki aktivitelerinde de hafif bir artış gözlenebilmektedir (Mansfield, 2012). Köpek VL olgularında epidemiyolojik bilgiler ve klinik belirtilerle ön tanıya gidilebilse de, kesin tanı, etkenin değişik formlarının görülmesiyle ve spesifik anti-leishmania antikollarının tespitine dayanan serolojik testlerle yapılmaktadır. Ancak çoğu olguda herhangi bir belirti görülmeyebildiğinden veya hastalık belirtilerinin leishmaniasis için spesifik olmaması nedeniyle klinik tanı konulması zorlaşmaktadır. Bu nedenle, kesin tanı için parazitolojik ve serolojik testler yanında biyokimyasal testlerden de yararlanılmaktadır (Abranches, Silva-Pereira, Conceição-Silva, Santos-Gomes, ve Janz, 1991; Gomes, Paiva Cavalcanti, Lira, Abath, ve Alves, 2008). Köpek VL'in ilk evrelerinde, hasta hayvanların klinik görünümünde bir değişiklik gözlenmez. Laboratuvar bulgularında ise, hastalığın başlangıç evresinde biyokimyasal parametreler normal düzeyde bulunurken hastalığın ileri evrelerinde bu değerler değişmeye başlar ve hastalığın terminal safhasında ise en yüksek düzeye ulaşır. Özellikle serum üre ve kreatinin düzeylerinde glomeruler bozukluk nedeniyle önemli artışlar görülmektedir. (Travi ve ark., 2018). İki yaşlı iki erkek köpekte deneysel oluşturulan CanL enfeksiyonunun ilk aylarında klinik değişiklikler gözlenmezken beşinci ayında lenf aspirasyonunda NNN besiyerinde parazitöz gözlemlendiği ve klinik tabloda da değişiklikler kaydedildiği, sekizinci ayında önemli bozukluklar gözlemlendiği ve toplam protein 8,7 g/dl,  $\gamma$ -globulin 4,5 g/dL, üre ve kreatinin düzeylerinin normal sınırlar içinde kaldığı, dokuzuncu ayında ise, klinik

tablonun ağırlaştığı, serum toplam protein değerinin 9,5 g/dL;  $\gamma$ -globulinin 5,5 g/dL, üre ve kreatinin düzeylerinin de sırasıyla 125,5 mg/dL ve 3,2 mg/dL olduğu, bundan kısa bir süre sonra da köpeklerde ölümlerin başladığı rapor edilmiştir (Valladares ve ark., 1997). Serum C-reaktif protein (CRP) değerlerinin, insanlarda olduğu gibi köpeklerde de akut faz cevabın (AFC) belirlenmesi ve izlenmesinde yararlı olacağı gösterilmiştir (Caspri ve ark., 1987; Burton ve ark., 1994). Köpeklerde de tipik akut faz proteinin CRP olduğu ve köpek CRP'inin insan CRP'i ile aynı antijenik yapıda olmadığı ancak, görev ve işleyiş bakımından onun benzeri olduğu (Yamamoto ve ark., 1993), uyarı sonrası CRP'nin kana salınımı insanda 6 saatte, köpekte ise 4 saatte gerçekleştiği bildirilmektedir (Martínez-Subiela ve ark., 2013; Silvestrini ve ark., 2014). Hastalığın akut fazda yaptığı hasarı, aktivitesini ve eğer tedavi ediliyorsa sonucunu ve tedaviye cevabını gözlemek için bazı kriterlere gerek duyulmaktadır. Çalışmada, köpek leishmaniasisinde doku hasarının şiddetini anlamak, olası böbrek bozukluğunu değerlendirmek ve hastalığın tanısına yardımcı olabilmek amacıyla serum CRP, üre kreatinin ve toplam protein düzeylerinin ölçümü ve hastalık ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Aydın ili Kuşadası ilçesi ve çevresinde beslenen köpeklere ait kan serum örnekleri çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Kuşadası ilçesi köpek barınağından 52, Aşağıdağdere'den 3, Dereçiftlik'den 3, Demirciler'den 2 olmak üzere toplam 60 köpek (22 kontrol; 38 hasta) serumu çalışmaya dahil edilmiştir. Parazitolojik ve serolojik olarak leishmaniasis negatif bulunan ve köpek evinin veteriner hekimi tarafından başka bir hastalığı

olmadığı belirtilen 6 aylık ile 8 yaş arasında 22 köpek çalışmanın kontrol grubunu oluşturmuş, VL pozitif bulunan ve klinik olarak hastalık belirtileri gösteren 2-10 yaşlı 38 köpek ise hasta grubuna alınmıştır. Araştırmaya alınan köpekler leishmaniasis'e özgü klinik belirtiler açısından da incelenmiş; daha sonraki muayenelerde kolaylıkla bulunabilmesi amacıyla numara verilmiş ve cinsiyetleri, yaşları, isimleri, hangi işte kullanıldıkları, varsa sahiplerinin isimleri kaydedilmiştir. Fiziksel muayene ve kan alma esnasında ısırması engellenen ve çalışanlar için tehlikesiz duruma getirilen köpeklerin sağ ve sol popliteal lenf bezleri muayene edilmiş, büyüklükleri 1'den 4'e kadar numaralandırılmış ve böylece kan ve doku örnekleri alınması sağlanmıştır. Köpeklerin ön bacak venasından (V. cephalica antebrachii) yaklaşık 5'er ml kan alınmış ve Ege Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına nakledilmiştir. Aynı gün serumları ayrılmış ve daha sonra endorf tüplerine aktarılıp -80°C'de saklanmıştır. Serum örneklerinde CRP, üre, kreatinin ve toplam protein miktarları ölçülmüştür. Serum C-reaktif protein miktarı Solid Faz Sandviç İmmunoassay ile ölçülmüş ve analizde Tridelta Phase TM CRP ticari test kiti kullanılmıştır (Eckersall, 1995; Eckersall ve Conner, 1988). Serum üre miktarı tayini Berthelot Reaksiyonu'na göre kolorimetrik olarak Biocon® un ticari kiti kullanılarak yapılmış (Patton ve Crouch, 1977) kreatinin miktarı Jaffe Reaksiyonu'na göre belirlenmiş (Whelton, Watson, ve Rock, 1994) ve toplam protein miktarı ise, Biüret

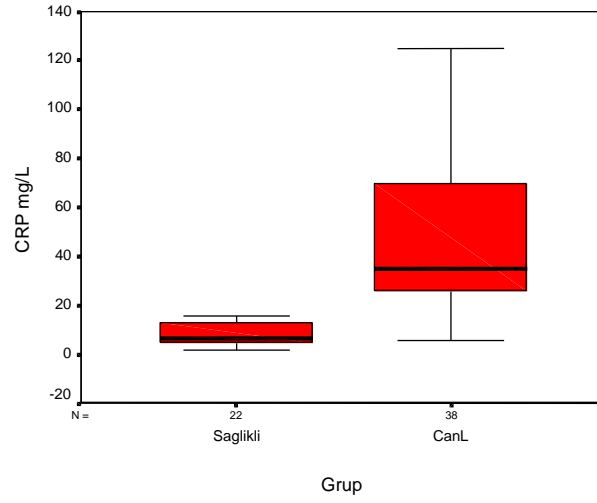
Reaksiyonu'nu esas alan Biocon® un ticari kiti ile ölçülmüştür (Hortin, Burtis, ve Ashwood, 2012).

### **İstatistik analiz**

Çalışma sonunda elde edilen gruplara ait ortalama değerler arasındaki farkın istatistik önemliliği "t-testi" ile değerlendirilmiştir (Kutsal, Alpan, ve Arpacık, 1990)

### **BULGULAR**

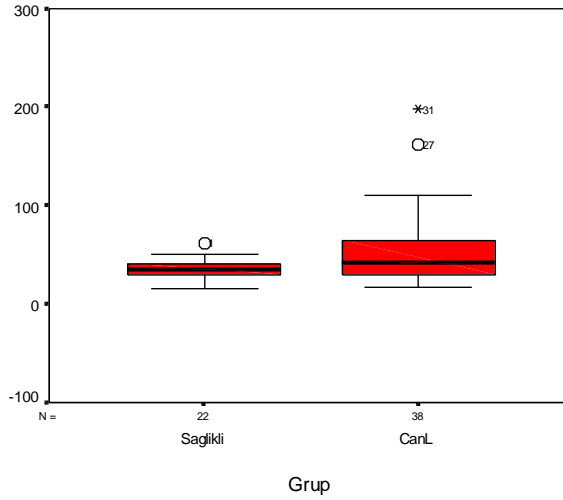
Çalışma alanındaki köylerde yaşayan köylülerin başlıca geçim kaynağının tarım ve hayvancılık olduğu, iklimin ve ekolojik koşulların bölgede hastalığın vektörünün yaşamasına olanak verecek uygunlukta olduğu görülmüştür. Toplam 38 köpekte parazitolojik ve serolojik testler sonucu VL tanısı konmuştur. Hastaların 8'inde Lenfadenopati, 14'ünde ateş, 12'sinde zayıflık, 16'sında tüy dökme, 7'sinde halsizlik, 17'sinde tırnak düşmesi, 13'ünde kepeklenme, 13'ünde lezyon, 8'inde konjunktivit, 3'ünde burun akıntısı gözlenmiş ve CanL ile ilgili olarak hastaların 11'inde cilt belirtilerine, 23'ünde visceral belirtilere ve 28'inde ise genel klinik belirtilere rastlanmıştır. Kontrol hayvanlardan sadece birinde (no:17) halsizlik belirtisi gözlenmiş, diğerlerinde herhangi bir klinik belirtiyeye rastlanmamıştır. Hasta grubu ile kontrol grubunun serum CRP, üre, kreatinin, ve toplam protein ortalama değerleri ile istatistik veriler Tablo 1'de sunulmuştur. Hasta grubunun serum CRP miktarı 45,36±33,05 mg/L iken kontrol grubunda 8,03±4,34 mg/L ölçülmüş ve gruplar arası fark istatistik olarak önemli bulunmuştur (p<0,001).



Şekil 1. Leishmaniasis'li köpeklerle sağlıklı köpeklerin serum CRP konsantrasyonlarının boxplot grafiği ile karşılaştırılması (p<0,001)

Hasta grubunun serum üre ortalama değeri  $52,95 \pm 38,73$  mg/dL olarak hesaplanmış ve kontrol değere göre

( $35,68 \pm 11,40$  mg/dL) artış istatistik açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0,05).



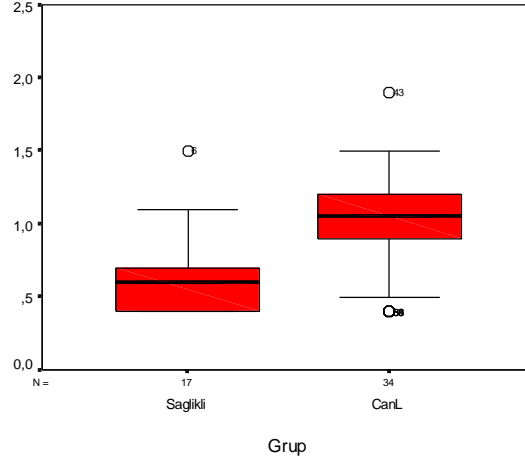
Şekil 2. Leishmaniasis'li köpeklerle sağlıklı köpeklerin serum üre konsantrasyonlarının boxplot grafiği ile karşılaştırılması (p<0,025)

**Tablo 1.** Hasta ve kontrol grubuna ait ortalama değerler ile gruplar arası farkın istatistik önemliliği

Parametre	Hasta Grup (n=38) X ± SD	Kontrol Grup (n=22) X ± SD	t	P
CRP (µg/dL)	45,36 ± 33,05	8,03±4,34	-5,51	0,000
Üre (mg/dL)	52,95 ± 38,73	35,68 ± 11,40	-2,30	0,025
Kreatinin (mg/dL)	1,01 ± 0,36	0,66 ± 0,30	-3,38	0,001
T-protein (g/dL)	10,34 ± 1,90	7,87 ± 1,15	-5,30	0,000

Hasta grubuna ait serum kreatinin ortalama değeri ( $1,01 \pm 0,36$  mg/dL) kontrol grubuna ait değerden ( $0,66 \pm 0,30$

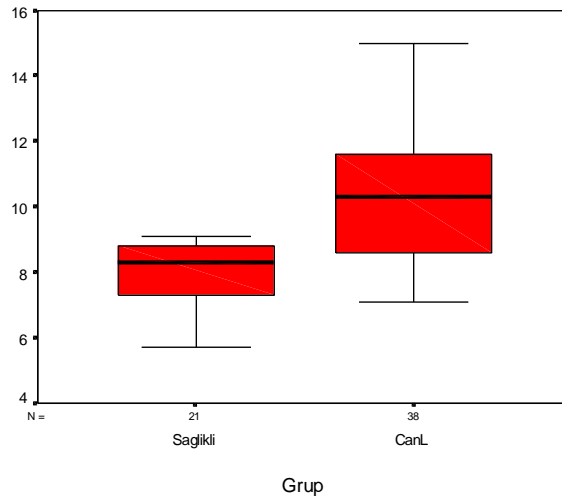
mg/dL) istatistik olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).



**Şekil 3.** Leishmaniasis’li köpeklerle sağlıklı köpeklerin serum kreatinin konsantrasyonlarının boxplot grafiği ile karşılaştırılması ( $p < 0,001$ )

Kontrol grubuna göre ( $7,87 \pm 1,15$  g/dL) hasta grubunun serum toplam protein ortalama değerindeki ( $10,34 \pm 1,90$  g/dL)

artış da istatistik olarak anlamlı hesaplanmıştır ( $p < 0,001$ ).



**Şekil 4.** Leishmaniasis’li köpeklerle sağlıklı köpeklerin serum toplam protein konsantrasyonlarının boxplot grafiği ile karşılaştırılması. ( $p < 0,005$ )

Sonuç olarak, incelenen kan parametreleri dikkate alınarak köpek VL’inde böbrek fonksiyonlarının bozulduğu ve akut faz cevapta önemli bir gösterge olan serum CRP analizinden köpek VL’ini tanımda en azından uygulamada güçlük arzeden lenf bezi

aspirasyonuna alternatif bir test olarak yararlanılabileceği kanısına varılmıştır.

## TARTIŞMA

Çalışmada, köpek leishmaniasisin’de ölüm nedenlerinden birisi ve en önemlisi olan böbrek

bozukluğu serum protein, üre ve kreatinin düzeyleri ile incelenmiş ve doku hasarının göstergesi ve tanıda yardımcı belirteç olarak serum CRP düzeyleri araştırılmıştır. Serum üre düzeyleri kontrol ve hasta hayvanlarda sırasıyla  $35,58 \pm 11,4$  ve  $52,95 \pm 38,73$  mg/dL, kreatinin düzeyleri sırasıyla  $0,66 \pm 0,30$  ve  $1,01 \pm 0,36$  mg/dL olarak bulunmuş ve gruplar arası fark istatistik önemli ( $p < 0,05$  ve  $p < 0,001$ ) hesaplanmıştır (Tablo 1). Bu sonuçlar böbrek fonksiyonlarının hastalık etkeninden hafif etkilendiğini göstermektedir. Gruplar arası farka rağmen serum kreatinin değerlerinin kontrol grubunda ve hasta hayvanlarda birkaç bireysel değer hariç tutulursa fizyolojik sınırlar içerisinde kaldıkları söylenebilir. Çünkü, köpeklerde normal serum kreatinin düzeylerinin  $0,5-1,5$  mg/dL arasında olduğu bildirilmiştir (Altındaş, 1993) Serum üre ortalama değerlerinin de gruplar arasındaki önemli farka rağmen kreatinin değerlerinde olduğu gibi bazı bireysel yüksek değerler hariç tutulursa fizyolojik sınırlar içinde seyrettiği düşünülebilir. Normal serum üre değerleri köpekler için  $15 - 40$  mg/dL olarak bildirilmiştir (Altındaş, 1993) Bu bulgular ve literatür bilgileri ışığında hastalığa bağlı olarak böbrek fonksiyonlarının hafif derecede etkilendiği kanısına varılmıştır. Tedavi edilmemiş kronik böbrek bozukluklarında plazma üre düzeyi tipik olarak  $110-135$  mg/dL'ye kadar yükselebilmektedir. İdrar üre düzeyinin ölçümü, aşırı azot dengesinin kaba bir göstergesi olması nedeniyle, klinik tanı ve tedavide çok az öneme sahiptir. Akut böbrek hastalıklarında kan kreatinin değeri tipik olarak  $4-6$  mg/dL'ye yükselirken bu artış, kronik böbrek hastalıklarında  $10$  mg/dL'ye kadar ulaşabilmektedir (Newman ve Price, 1999) (Elliott, 2006). Palacio ve

arkadaşlarının (Palacio, Liste, ve Gascon, 1995) leishmaniasis'li köpekler üzerinde yapmış oldukları çalışmada, üre düzeylerini sağlıklı köpeklerde  $1,4 \pm 0,3$  mmol/L leishmaniasisli olanlarda ise  $2,2 \pm 0,5$  mmol/L normal kreatinin düzeylerini ise sağlıklı olanlarda  $79,6 \pm 17,7$   $\mu$ mol/L leishmaniasisli olanlarda ise  $97,2 \pm 8,8$   $\mu$ mol/L olarak normal sınırlar içinde bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada (Palacio, Liste, & Gascon, 1997) ise, leishmaniasisli grubun serum üre ve kreatinin konsantrasyonları ile kontrol grubunun serum üre ve kreatinin konsantrasyonları arasında önemli fark bulmuşlardır. Bu bulgular çalışma sonuçlarımızı destekler nitelikte bulunmuştur. Serum toplam protein ortalama değerleri kontrol ve hasta köpeklerde sırasıyla  $7,87 \pm 1,15$  g/dL ve  $10,34 \pm 1,90$  g/dL olarak saptanmış ve farkın istatistik önemli ( $p < 0,001$ ) olduğu hesaplanmıştır (Tablo 1). Bunun hastalığa bağlı olarak immunoglobulinlerdeki artış ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Çünkü, VL ile ilgili olarak köpeklerde Ig sentezinde önemli artış olduğu bildirilmektedir (Mancianti, Poli, ve Bionda, 1989) (Mancianti ve ark., 1986; (Lopez ve ark., 1996) Toplam protein ölçümü bu artışı gösteremez, ya elektroforetik teknikler ya da doğrudan Ig analizleri gösterebilir. Çalışmada bu yönde bir test uygulanmadığı için kesin bir şey söylemek mümkün görülmemektedir. Ancak, köpeklerde VL'de Ig artışı ile ilgili olarak böbrek bozuklukları literatürlerde bildirilmektedir (Poli ve ark., 1991; Nieto ve ark., 1992; Valladeres ve ark., 1997). Köpek leishmaniasis'inde oluşan böbrek bozukluğu hasta köpeklerin kan dolaşımındaki hastalığa karşı geliştirilen immun kompleksler tarafından meydana getirilir. Hastalıkla beraber, köpeğin savunma sisteminde hızla İmmunglobulin G, M, A ve kompleman

3 (C3) fraksiyonu aşırı bir şekilde sentez edilmeye başlar. Bu arada, mezenşial matrikste amiloid depolanması olur ve glomerular bazal membranlarda da bu birikim devam eder. Dolaşımında artan bu immunglobulinler, bir süre sonra böbrek glomerullerinde birikerek böbrek harabiyeti oluşturur. Hastalığın son safhasında kan üre ve kreatinin seviyesi had safhaya ulaşır. Kan proteinleri ise albumin dışında, normalden oldukça yüksek bir düzeye erişir. Bazı hasta köpeklerdeki bu bozukluk, böbrek yetmezliğine ve ölüme doğru hızlı bir meyil gösterirken bazılarında da bu eğilimin yavaş seyrettiği gözlenebilir. Glomerulonefrit sonucu gelişen proteinüri hastanın durumunu daha da kötüleştirir. Nitekim, ilerleyici böbrek bozukluğu VL'li köpeklerde başlıca ölüm sebeplerinden birisini oluşturur (Nieto ve ark., 1992). İtalya'nın Elba yöresinde 1500 köpek leishmaniasis bakımından taranmış ve L. infantum ile enfekte 413 köpek içinden rastgele seçtikleri 34 köpeğin 33'ünde böbrek bozukluğu gözlenmiş ve bunun immunolojik kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Poli ve ark., 1991; Soares, Moraes, ve Moraes, 2009). Serum toplam protein normal değerleri köpekler için (5,7–7,7 g/dL) olarak bildirilmiştir (Altındaş, 1993) Çalışmada kontrol gruba ait örneklerden elde edilen değerler fizyolojik sınırlar içinde değerlendirilebilir. Ne varki, toplam proteini oluşturan fraksiyonlarda önemli farklılıklar olsa da bunun toplam protein değeri ile yansıtılmadığı bilinmektedir (Karagül, 2000). Serum CRP ortalama değerleri hasta grup için 45,36 33,05 mg/L; kontrol grup için 8,03 4,34 mg/L olarak hesaplanmış ve gruplararası farkın istatistik önemli olduğu ( $p < 0,001$ ) saptanmıştır (Tablo 1). Sağlıklı köpeklerde serum CRP değeri 3,5-25,0 mg/L olarak bildirilmiştir (Caspi ve ark., 1987; Burton ve ark., 1994; Otabe ve

ark., 2000). Kontrol değerlerin literatür ile uyumlu olduğu ve köpek VL'inde serum CRP düzeylerinin önemli derecede artış gösterdiği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, L. Infantum ile enfekte köpeklerden klinik belirti gösterenlerin serum CRP düzeyininin klinik belirti göstermeyen köpeklere göre önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (Martinez-Subiela ve ark., 2002). Bu bilgiler ışığında CRP, köpek VL'in tanısında sekonder bir yardımcı gösterge, hastalığın ciddiyetini değerlendirmede önemli bir belirteç olabilir ve en azından doku aspirasyonu yerine kullanılabilir. Çünkü, CRP'nin prognostik değerinin kemik iliği ve dalak aspirasyonu ile paralellik arz edecek derecede parazitin klerensinin iyi bir göstergesi olduğu Hindistanda 144 insan VL olgusu üzerinde gösterilmiştir (Singh ve ark., 1999). Köpeklerde serum CRP düzeylerinin, kan sayımındaki değişikliklerden daha önce ve daha güvenilir şekilde yangıya işaret ettiği ve bu nedenle tanı ve tedavide yararlı bir test olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Burton ve ark., 1994). İnsanda ve hayvanda doku hasarı ya da enfeksiyon gibi bir enflamasyon uyarının oluşması durumunda konak, sistemik ve metabolik değişikliklerle bu uyarıya cevap verir ve enflamasyonu önlemeye çalışır. Bu durum, akut faz cevap (AFC) olarak tanımlanır. AFC sırasında karaciğerde akut faz proteinleri (AFP) diye bilinen bir kısım proteinlerin sentezinin artması önemli bir değişiklik olarak algılanır (Young ve ark., 1991). CRP en önemlilerinden biri olup hasarın ciddiyetine göre plazmada, başlangıç düzeyinden 100 ya da 1000 kat artış gösterebilir. Hatta çok ciddi durumlarda bu artış, 2000 katına kadar çıkabilir (Silverman ve Christenson, 1996). CRP, doku hasarını takiben 6 saatte sentezlenmeye başlar ve kana salınır. Sentezi takiben her 8 saatte başlangıç



miktarını ikiye katlar ve 24-48 saatte doruk seviyeye ulaşır (Pepys, 1981). Akut uyarımın kaybolması ile kandaki konsantrasyonu da hızla normal düzeye iner. Köpekler için salınım süresi uyarımdan sonra 4 saat olarak bildirilmiştir (Caspi ve ark., 1987; Nakamura ve ark., 2008). Altı köpekte indometazin ile deneysel oluşturulan akut gastrik mukozal yangıda, mukozal hasar ile serum CRP değerlerinin doğru orantılı olarak yükseldiği tesbit edilmiş; deneysel yangı oluşturmadan önce CRP serum düzeyleri 3,2-23,7 mg/L arasında iken, yangının birinci gününde 12,2-390,6 mg/L; üçüncü gününde 34,7-144,7 mg/L; yedinci gününde 12,8-51,3 mg/L ve 14. gününde 8,4-39,8 mg/L olarak ölçülmüş ve gastrik mukozal hasarın iyileşmesiyle birlikte serum CRP düzeyinin de hızla normale döndüğü gözlenmiştir (Hillström, Hagman, Tvedten, ve Kjelgaard-Hansen, 2014; Otabe, Ito, Sugimoto, ve Yamamoto, 2000). CRP'in, L. Donovanı'nın yüzeyine lipofosfoglikan (LPG) aracılığıyla spesifik olarak bağlandığı ve mononükleer fagositik hücrelerin paraziti fagosite etmesine yardım ettiği in-vitro olarak gösterilmiştir (Culley, Harris, Kaye, McAdam, ve Raynes, 1996). Sonuç olarak, yurdumuzda özellikle Ege kıyı bölgesinde yaşayan köpeklerin önemli bir sorunu olan VL'de serum üre, kreatinin, toplam protein ve CRP değerlerinin önemli düzeylerde artış gösterdikleri ve bu değişikliklerin hastalığın boyutları hakkında bilgi verebileceği, diğer laboratuvar bulgularıyla birlikte hastalığın tanısında kullanılabileceği serum CRP analizinin doku aspirasyonuna alternatif olarak düşünülebileceği, hastalığın prognozunda ve tedaviye cevabın izlenmesinde klinik olarak yararlanılabileceği kanısına varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Çalışma sırasında, materyal temini ve muayenede Kuşadası Köpek Evi Veteriner Hekim'i Sayın Nevzat YILDIZLI'ya; serolojik tanıda Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Yusuf ÖZBEL ile Sayın Doç. Dr. Seray ÖZENSOY'a; Parazit ile ilgili bilgi ve belgelerin düzenlenmesinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Protozooloji Öğretim Üyesi ve Tez İzleme Komitesi Üyesi Sayın Prof. Dr. Ayşe ÇAKMAK'a katkılarından dolayı teşekkürü borç biliriz.

## KAYNAKLAR

- Abranches, P., Silva-Pereira, M.C., Conceição-Silva, F.M., Santos-Gomes, G.M., Janz, J.G. 1991. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *J Parasitol*, 77(4): 557-561.
- Altındaş, A. 1993. Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 40(02): 173-186.
- Bianciardi, P., Fasanella, A., Manzillo, V. F., Trotta, T., Pagano, A., Sorino, S., Oliva, G. 2004. The efficacy of enrofloxacin, alone or combined with metronidazole, in the therapy of canine leishmaniasis. *Parasitology Research*, 93(6): 486-492.
- Caspi, D., Snel, F., Batt, R., Bennett, D., Rutteman, G., Hartman, E., Pepys, M. 1987. C-reactive protein in dogs. *Am J Vet Res*, 48(6): 919-921.
- Culley, F.J., Harris, R.A., Kaye, P.M., McAdam, K., Raynes, J.G. 1996. C-reactive protein binds to a novel ligand on *Leishmania donovani* and increases uptake into human macrophages. *The Journal of Immunology*, 156(12): 4691-4696.

- Desjeux, P. 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 27(5): 305-318.
- Eckersall, P. 1995. Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comparative Haematology International*, 5(2): 93-97.
- Eckersall, P., Conner, J. 1988. Bovine and canine acute phase proteins. *Veterinary research communications*, 12(2-3): 169-178.
- Elliott, D.A. 2006. Nutritional management of chronic renal disease in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 36(6): 1377-1384.
- Ferrer, L. 1999. Clinical aspects of canine leishmaniasis. Paper presented at the International Canine Leishmaniasis Forum.
- Gomes, Y.M., Paiva Cavalcanti, M., Lira, R. A., Abath, F.G.C., Alves, L.C. 2008. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: Biotechnological advances. *The Veterinary Journal*, 175(1): 45-52.
- Guessous-Idrissi, N., Berrag, B., Riyad, M., Sahibi, H., Bichichi, M., Rhalem, A. 1997. *Leishmania tropica*: etiologic agent of a case of canine visceral leishmaniasis in northern Morocco. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 57(2): 172-173.
- Hillström, A., Hagman, R., Tvedten, H., Kjelgaard-Hansen, M. 2014. Validation of a commercially available automated canine-specific immunoturbidimetric method for measuring canine C-reactive protein. *Veterinary clinical pathology*, 43(2): 235-243.
- Hirve, S., Kroeger, A., Matlashewski, G., Mondal, D., Banjara, M. R., Das, P., Olliaro, P. 2017. Towards elimination of visceral leishmaniasis in the Indian subcontinent—Translating research to practice to public health. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(10): e0005889.
- Hommel, M. 1999. Visceral leishmaniasis: biology of the parasite. *Journal of Infection*, 39(2): 101-111.
- Hortin, G., Burtis, C., Ashwood, E. 2012. Amino acids, peptides, and proteins. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 5th ed. Missouri: ELSEVIER Saunders, 509-563.
- Karagül-Hilal., A.A., Fidancı Ulvi-Reha., Sel Tevhide. 2000. *Klinik Biyokimya*: Medisan.
- Kaye, P., Scott, P. 2011. Leishmaniasis: complexity at the host–pathogen interface. *Nature Reviews Microbiology*, 9(8): 604-615.
- Kutsal, A., Alpan, O., Arpacık, R. 1990. İstatistik uygulamalar. *Bizim Büro Basımevi*, Ankara, 16-88.
- Lopez, R., Lucena, R., Novales, M., Ginel, P., Martin, E., Molleda, J. 1996. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 43(1-10): 469-474.
- Maia, C., Campino, L. 2008. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Veterinary Parasitology*, 158(4): 274-287.
- Mancianti, F., Poli, A., Bionda, A. 1989. Analysis of renal immune-deposits in canine leishmaniasis. Preliminary results. *Parassitologia*, 31(2-3): 213-230.
- Mansfield, C. 2012. Acute pancreatitis in dogs: advances in understanding, diagnostics, and treatment. *Topics in companion animal medicine*, 27(3): 123-132.
- Martínez-Subiela, S., García-Martínez, J.D., Tvarijonaviciute, A., Tecles, F., Caldin, M., Bernal, L.J., Cerón, J.J. 2013. Urinary C reactive protein levels in dogs with leishmaniasis at different stages of renal damage. *Research in veterinary science*, 95(3): 924-929.
- Moreno, J., Alvar, J. 2002. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends in Parasitology*, 18(9):399-405.

- Nakamura, M., Takahashi, M., Ohno, K., Koshino, A., Nakashima, K., Setoguchi, A., Tsujimoto, H. 2008. C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(2): 127-131.
- Newman, D.J., Price, C. 1999. Renal function and nitrogen metabolites. In 'Tietz Textbook of Clinical Chemistry'. (Eds CA Burtis and ER Ashwood.) pp. 631–654. In: WB Saunders Company, Philadelphia.
- Nieto, J. 2004. Canine leishmaniasis. *Advances in parasitology*, 1.
- Otabe, K., Ito, T., Sugimoto, T., Yamamoto, S. 2000. C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury. *Laboratory animals*, 34(4): 434-438.
- Ozensoy, S., Ozbel, Y., Turgay, N., Alkan, M. Z., Gul, K., Gilman-Sachs, A., Ozcel, M. A. 1998. Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey. *Am J Trop Med Hyg*, 59(3): 363-369.
- Palacio, J., Liste, F., Gascon, M. 1995. Urinary protein/creatinine ratio in the evaluation of renal failure in canine leishmaniasis. *Veterinary record*, 137(22): 567-568.
- Palacio, J., Liste, F., Gascon, M. 1997. Enzymuria as an index of renal damage in canine leishmaniasis. *Veterinary record*, 140(18): 477-480.
- Patton, C.J., Crouch, S. 1977. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Analytical chemistry*, 49(3): 464-469.
- Poli, A., Abramo, F., Mancianti, F., Nigro, M., Pieri, S., Bionda, A. 1991. Renal involvement in canine leishmaniasis. *Nephron*, 57(4): 444-452.
- Silvestrini, P., Zoia, A., Planellas, M., Roura, X., Pastor, J., Cerón, J., Caldin, M. 2014. Iron status and C-reactive protein in canine leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice*, 55(2): 95-101.
- Soares, M., Moraes, J., Moraes, F. R. d. 2009. Renal involvement in canine leishmaniasis: a morphological and immunohistochemical study. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(4): 785-790.
- Tosun, C., Handemir, E., Çam, Y., Öztapak, K., Keskin, O., Kırmızı, E. 2001. Bir köpek Visseral leishmaniazis olgusu ve amphoterasin-B ile tedavisi. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 25(2): 115-122.
- Travi, B. L., Cordeiro-da-Silva, A., Dantas-Torres, F., Miró, G. 2018. Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(1): e0006082.
- Valladares, J., Riera, C., Pastor, J., Gállego, M., Portús, M., Arboix, M. 1997. Hepatobiliar and renal failure in a dog experimentally infected with *Leishmania infantum*. *The Veterinary Record*, 141(22): 574-575.
- Whelton, A., Watson, A., Rock, R. 1994. Nitrogen metabolites an renal function In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Ed. by Burtis CA, Ashwood E R. In: WB Saunders Company, Philadelphia.
- Wilhelm, T.J. 2019. [Visceral leishmaniasis]. *Chirurg*, 90(10): 833-837.