



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2021; 35 (3): 136 - 138
http://www.fusabil.org

***Leishmania infantum*'lu Köpeklerde Bazı Minerallerin Serum Düzeyleri**

Sezai ARSLAN ^{1, a}
Kudret YENİLMEZ ^{2, b}
Taraneh ÖNCEL ^{1, c}

¹ Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Tekirdağ, TÜRKİYE

² Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı,
Tekirdağ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0001-9537-6024
^b ORCID: 0000-0002-5532-0525
^c ORCID: 0000-0003-1039-5256

Bu çalışmanın amacı *Leishmania infantum* (*L. infantum*)'lu köpeklerin kan serumunda magnezyum (Mg), mangan (Mn), bakır (Cu), çinko (Zn), selenyum (Se) ve molibden (Mo) düzeylerini ortaya koymaktır. Çalışmanın materyalini 14 *L. infantum*'lu ve 10 sağlıklı köpek oluşturdu. Anti *L. infantum* antikorlarının tespiti ELISA testiyle yapıldı. Serum mineral düzeylerine İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometre (ICP-OES) cihazıyla bakıldı. Sağlıklı köpeklere göre layşmanyozisli köpeklerde serum Zn, Se ve Mo düzeylerinde azalma Cu düzeylerinde ise artma tespit edilmesine rağmen sadece Zn seviyesinde istatistiksel bir önem tespit edildi ($P<0.05$). Sonuç olarak layşmanyozisli köpeklerde serum Zn düzeyinde bir azalma olduğu ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania infantum*, mineral, köpek

Serum Levels of Some Minerals in Dogs with *Leishmania infantum*

The aim of this study was to determine the levels of magnesium (Mg), manganese (Mn), copper (Cu), zinc (Zn), selenium (Se) and molybdenum (Mo) in the blood serum of dogs with *Leishmania infantum* (*L. infantum*). The material of the study consisted of 14 dogs with *L. infantum* and 10 healthy dogs. Detection of anti *L. infantum* antibodies ELISA test was performed. Serum mineral levels were determined by an Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES). Although serum Zn, Se and Mo levels were decreased and Cu levels increased in dogs with Leishmaniasis compared to the healthy dogs, only Zn level was statistically significant. As a result, it was revealed that the serum Zn level was decreased in dogs with leishmania.

Key Words: *Leishmania infantum*, mineral, dog.

Giriş

Layşmanyozis dişi phlebotomine kum sinekleri tarafından bulaştırılan vektör kaynaklı zoonoz bir hastalık olup, köpekler parazitin ana rezervuar kaynağı olarak kabul edilir (1). *L. infantum*'un neden olduğu Köpek layşmanyozisi (CanL) potansiyel ölümcül bir hastalıktır (2). *Leishmania* bulaşmış insan ve köpeklerin çoğu asemptomatik bir enfeksiyon gösterirken, değişken bir süre zarfında hastalığın açık belirtilerini gösteren vakalar sadece % 5-20'dir (3).

Mineral maddeler hayvanların sağlıklı bir şekilde büyümeleri, gelişmeleri, üremeleri ve bunları devam ettirebilmeleri için gerekli olan temel besin maddeleridir. Mineral maddelerin bir kısmı (kalsiyum, fosfor gibi) vücudun kuruluşuna, bir kısmı (kalsiyum, magnezyum gibi) sinir iletiminde, bir kısmı (kalsiyum) kanın pıhtılaşmasında, bir kısmı (iyot gibi) hormon sentezinde, bir kısmı (çinko, bakır, mangan, selenyum gibi) enzimlerde ko-faktör olarak, bir kısmı (kobalt gibi) vitamin sentezine ve bir kısmı da stokrom oksidaz ve hemoglobin yapısına girerler (4).

Elementlerin vücuttaki konsantrasyonları mikrogram düzeyinde olursa eser (iz) elementler veya mikroelementler, miligram düzeyinde olursa makroelementler olarak isimlendirilmektedir. Na, K, Mg, Ca ve P esansiyel makroelementler, Cu, Co, Mo, Mn, Zn, I, F ve Cr ise esansiyel mikroelementler olarak kabul edilmektedir (5).

İz elementler hücrel fonksiyonlar için önemli olup bazıları hayati birçok enzimin kofaktörüdür (6). Mikroblesinler patojenler dahil tüm organizmaların hayatta kalması ve büyümesi için gereklidir (7). Mikroblesin eksiklikleri ve enfeksiyöz hastalık sıklıkla bir arada bulunur ve karşılıklı olarak güçlendirilmiş zararlı klinik etkilere yol açan karmaşık etkileşimler gösterir (8). Birkaç mikroblesin, önemli immüno-modülatörlerdir ve bu nedenle konak-mikroorganizma etkileşimlerinin sonucunun belirlenmesinde kritik öneme sahiptir. Enfeksiyonlar ise besin alımını azaltarak, kayıpları artırarak ve metabolik yolları değiştirerek kullanıma müdahale ederek mikroblesin eksikliklerini şiddetlendirir (9). Layşmanyozisli köpeklerde yapılan çalışmalarda sağlıklı hayvanlara göre serum Fe, Zn, Se ve Cu düzeylerinde önemli değişimlerin meydana geldiği ifade edilmiştir (10-12).

Layşmanyozisli köpeklerde yaşamsal öneme sahip mineral madde düzeyleriyle ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada *L. infantum*'lu köpeklerin kan serumunda bazı mineral maddelerin (Mg, Mn, Cu, Zn, Se ve Mo) düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Geliş Tarihi : 25.06.2021
Kabul Tarihi : 18.08.2021

Yazışma Adresi Correspondence

Sezai ARSLAN
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Tekirdağ – TÜRKİYE

sezaiwetgov@yahoo.com

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Bu çalışma için Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik kurulundan 23.09.2020 tarih ve T2020-480 karar sayısı ile izin alındı.

Bu çalışmada 14 *L. infantum*'lu ve 10 sağlıklı toplam 24 köpek kullanıldı. Köpekler her iki cinsiyette 2 ila 7 yaş aralığındaydı. Çalışmadaki hayvanlar aynı ticari mama ile besleniyordu. Layşmanyozisle uyumlu semptomlar gösteren köpekler ile klinik olarak sağlıklı köpeklerin *Vena cephalica antebrachii*'sinden antikoagülsüz ve kan frotisi için EDTA'lı kan örnekleri alındı. Enfekte ve sağlıklı köpeklerin kan frotisi giemsa boyama ile *Ehrlichia* spp, *Anaplasma* spp. ve *Babesia* spp. yönünden kontrol edildi. Kan örnekleri 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı ve elde edilen plazma ve serum örnekleri test yapılmaya kadar -80 °C de saklandı.

Anti *L. infantum* antikorlarının tespiti için ticari ELISA test kiti (ID Screen® Leishmaniasis Indirect Test, Fransa) kullanıldı. ELISA test kiti firmanın kullanma talimatına göre yapıldı. ELISA test sonuçlarına göre pozitif olanlar *L. infantum*'lu grubu (n:14), negatif olanlar sağlıklı grubu (n:10) oluşturmuştur. Serumda Mg, Mn, Cu, Zn, Se ve Mo tayini Al-Jameil ve ark. (13) tarafından bildirilen yöntemle göre İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometre (ICP-OES) cihazıyla (Spectro, Spectroblue SOP) yapıldı. Elde edilen verilerin normallik analizi Shapiro-Wilk testi ile yapılarak normal dağılıma uygun olduğu belirlendi. Kontrol ve layşmanyozisli gruplar arasındaki karşılaştırmada Student t-testi (14), SPSS 24 paket programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel önem $P < 0.05$ olarak belirlendi.

Bulgular

Enfekte ve sağlıklı köpekler *Ehrlichia* spp, *Anaplasma* spp. ve *Babesia* spp yönünden negatif olarak tespit edildi. *L. infantum*'lu köpekler ile sağlıklı köpeklerin serum örnekleri kıyaslandığında enfekte köpeklerde Zn, Se ve Mo düzeylerinde düşüş, Cu düzeyinde ise bir artış tespit edildi. İstatistiksel olarak sadece Zn serum düzeyinde önem ($P < 0.05$) tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Sağlıklı ve *L. Infantum*'lu köpeklerde serum mineral madde düzeyleri

Mineraller	Sağlıklı (n=10) X±SD	<i>L. infantum</i> (n=14) X±SD	P
Mg (mg/dL)	1.84±0.24	1.88±0.43	>0.05
Mn (µg/dL)	2.89±0.20	2.90±0.28	>0.05
Cu (µg/dL)	53.50±10	55.27±12.86	>0.05
Zn (µg/dL)	109.74±20.26	83.08±26.25	<0.05
Se (µg/dL)	28.02±6.97	26.68±8.10	>0.05
Mo (µg/dL)	1.82±2.46	1.54±1.0	>0.05

X±SD (Ortalama değer±Standart sapma)

Tartışma

Layşmanyozis zoonoz bir hastalık olup, köpekler hem doğal konak hem de parazitin ana rezervuarıdır (1, 10). Mikroblesinler patojenler dahil tüm organizmaların hayatta kalması ve büyümesi için gereklidir (7). Yaşam için esansiyel olan eser elementler eksik alındığında canlılarda fonksiyonel bozukluklara yol açmaktadır (15). Eser element eksiklikleri ve hastalıklar arasında etkileşim iki şekilde olmaktadır. Bunlardan biri diyet yetersizliği diğeri ise hastalıklardan kaynaklanan dengesizliktir (12). Enfeksiyonlar besin alımını azaltarak, kayıpları artırarak ve metabolik yolları değiştirerek kullanıma müdahale ederek mikroblesin eksikliklerini şiddetlendirir (9). *Leishmania* enfeksiyonunun şiddeti ve duyarlılığı, vücut ağırlığı ve mikroblesinlerin serum seviyeleri tarafından etkilenmektedir (16).

Layşmanyozisli ve sağlıklı köpeklerin Zn, Cu, Fe, Se, Mg, Ca ve P düzeylerine bakılarak karşılaştırılmalar yapılmıştır (10-12). Souza ve ark. (10)'nın yaptığı çalışmada Fe, Zn ve Se serum düzeylerinin enfekte köpeklerde enfekte olmayan kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük olduğu buna karşın Cu düzeyi yüksek olduğu ifade edilmiştir. Heidarpour ve ark.(11) yaptıkları bir çalışmada enfekte köpeklerde Cu, Zn ve Fe düzeylerinin kontrole göre azaldığını, Cu ve Zn da istatistiksel önem tespit ettiğini Fe de ise istatistiksel önem tespit etmediğini ifade etmiştir. Paşa ve ark. (12) *Leishmania* enfekte köpeklerde kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde Zn ve Fe de bir azalma Cu da ise bir artma tespit etmiştir. Ancak Mg, Ca ve P düzeylerinde istatistiksel bir önem tespit edememiştir. Sunulan çalışmada *L. infantum*'lu köpeklerde kontrole göre serum Zn düzeyinde istatistiksel olarak bir azalma tespit edildi. *L. infantum*'lu köpeklerde Se ve Mo düzeylerinde bir azalma Cu düzeyinde ise bir artma tespit edilmesine rağmen istatistiksel bir önem tespit edilemedi. Serum Zn düzeylerindeki düşüş daha önce yapılan çalışmalarla (10-12) uyumluydu. Eser elementler, hücrel antioksidan sistemin ayrılmaz bir parçasıdır ve çinko gibi elementler, oksidanlara karşı hücrel savunmaya katıldığı (17) gibi patojenlerin büyümesi ve virülansı için gerekli temel unsurlardan biridir (18). Yapılan bir çalışmada (7) *L. donovanii*'nin hayatta kalmasında çinkonun önemli rolünün olduğu, Zn tükenmesinin *L. donovanii*'nin ölümünü teşvik edebileceği ifade edilmektedir. *Leishmania* parazitleri hayatta kalmak ve enfeksiyon oluşturmak için konaktan besinleri toplar ve içselleştirir. Bununla birlikte, konak hücreler, mikrobiyal büyümeyi engellemek ve enfeksiyonu kontrol etmek için besin kısıtlaması gibi bir mekanizma sunar (19). Çalışmada *L. infantum*'lu köpeklerde Zn seviyesinin düşük olması konağın etkeni öldürmek için çinko kısıtlamasına gitmesinden kaynaklanmış olabileceği gibi hastalığın sebep olduğu iştahsızlıktan dolayı yeterli beslenememiş olmalarından da kaynaklanmış olabilir. *Leishmania* enfekte köpeklerde Cu düzeyi normale göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel bir önem tespit edilemedi. Daha önce *Leishmania* enfekte köpeklerde yapılan çalışmalarda Cu düzeyinin arttığını bildirenlerin yanında (10, 12) azaldığını bildiren (11) çalışmalar da mevcuttur. Souza ve ark. (10) *L. infantum chagasi*'li

köpeklerde Se miktarının kontrole göre azaldığı ve istatistiksel olarak önemli olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışmada enfekte köpeklerde Se düzeyinin kontrole göre azalmış olmasına rağmen istatistiksel bir önem tespit edilemedi. Paşa ve ark. (12) Mg düzeyinde önemli bir istatistiksel farkın olmadığını ifade etmiştir. Sunulan çalışmada Mg düzeyinde istatistiki bir önem tespit edilemedi. *Leishmania* enfekte köpeklerde Mo düzeyinde kontrole göre bir azalma tespit edilmesine rağmen istatistiksel bir önem tespit edilemedi. Layşmanyozisli

köpeklerde serum Molibden düzeyiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmadığında karşılaştırma yapılamamıştır.

Sonuç olarak, *L. infantum*'lu köpeklerde serum mineral madde düzeylerinde değişimlerin meydana geldiği, özellikle Zn seviyesindeki azalmanın önemli olduğu tespit edildi. *L. infantum*'lu köpeklerde mineral maddelerdeki değişimlerin konak savunmasından mı yoksa hastalıktan kaynaklanan beslenme bozukluğundan mı kaynaklandığının ortaya konulması için daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol* 2009 28; 165: 1-18.
- Solano-Gallego L, Roura X, Baneth G. Leishmaniosis, In: Day MJ (Editors). *Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 2nd Edition, London: CRC Press, 2016: 125-140.
- Rodríguez-Cortés A, Martori C, Martínez-Florez A, et al. Canine Leishmaniosis progression is associated with vitamin D deficiency. *Scientific Reports* 2017; 7: 1-10.
- Kaya S. Mineral maddeler. In: Kaya S. (Editör). *Veteriner Farmakoloji*. Cilt 2, 4. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, 2007: 267-278.
- Orak E, Yanardağ R, Orak H. Selenyum ve kalp hastalıkları ile ilişkisi. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2000; 28: 230-238.
- Prashanth L, Kattapagari KK, Chitturi RT, Baddam VRR, Prasad LK. A review on role of essential trace elements in health and disease. *J Dr NTR Univ Health Sci* 2015; 4: 75-85.
- Saini S, Bharti K, Shaha C, Mukhopadhyay CK. Zinc depletion promotes apoptosis-like death in drug-sensitive and antimony-resistance *Leishmania donovani* *Scientific Reports* 2017; 7: 1-14.
- Rivera MT, De Souza AP, Araujo-Jorge TC, De Castro SL, Vanderpas J. Trace elements, innate immune response and parasites. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1020-1025.
- Bhaskaram P. Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview. *Nutr Rev* 2002; 60: 40-45.
- Souza CC, Barreto Tde O, da Silva SM, et al. A potential link among antioxidant enzymes, histopathology and trace elements in canine visceral leishmaniasis. *Int J Exp Pathol* 2014; 95: 260-270.
- Heidarpour M, Soltani S, Mohri M, Khoshnegah J. Canine visceral leishmaniasis: Relationships between oxidative stress, liver and kidney variables, trace elements, and clinical status. *Parasitol Res* 2012; 111: 1491-1496.
- Paşa S, Kargin F, Bildik A, et al. Serum and hair levels of zinc and other elements in dogs with visceral leishmaniasis. *Biol Trace Elem Res* 2003; 94: 141-147.
- Al-Jameil N, Tabassum H, Al-Mayouf H, et al. Analysis of serum trace elements-copper, manganese and zinc in preeclamptic pregnant women by inductively coupled plasma optical emission spectrometry: a prospective case controlled study in Riyadh, Saudi Arabia. *International J Clin Exp Path* 2014; 7: 1900-1910.
- Kim TK. T test as a parametric statistic. *Korean J Anesthesiol* 2015; 68: 540-546.
- Akan T. Hemodiyaliz Süresinin Kan Eser Element Düzeyleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar: Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- Nweze JA, Nweze EI, Onoja US. Nutrition, malnutrition, and leishmaniasis. *Nutrition* 2020; 73: 1-14.
- Klotz LO, Kroncke KD, Buchczyk DP, Sies H. Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *J Nutr* 2003; 133: 1448-1451.
- Sugarman B. Zinc and infection. *Review of Infectious Diseases* 1983; 5: 137-147.
- Kumari A, Singh KP, Mandal A, et al. Intracellular zinc flux causes reactive oxygen species mediated mitochondrial dysfunction leading to cell death in *Leishmania donovani*. *PLOS One* 2017; 12: 1-25.