

## Koyunlarda Gebeliğin Çeşitli Dönemlerinde Serum Adenozin Deaminaz Düzeyleri

Muhammet ALAN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE

Zahit Tevfik AĞAOĞLU

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE

Ahmet UYAR

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE

Nuri ALTUĞ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.11.2000

**Özet:** Bu çalışmada, koyunlarda gebeliğin başlangıcındaki, ilerleyen çeşitli dönemlerdeki ve doğumdan hemen sonraki serum adenozin deaminaz düzeylerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal olarak 13 adet Karakaş ırkı koyun kullanıldı. Koyunlardan aşım günü, aşımdan sonra 10., 21., 35., 75., 104., 144. günlerde ve doğumdan 10 gün sonra kan alınarak serumları çıkartıldı. Serumlar aynı gün laboratuvarında işlenerek adenozin deaminaz düzeyleri IU/L cinsinden belirlendi.

Koyunlarda aşım günü ve doğum sonrasında elde edilen yüksek düzeylerdeki adenozin deaminaz aktiviteleri gebelik dönemi ilerledikçe düşmüş ve doğuma en yakın zamanda en düşük değerler elde edilmiştir. Değerler sırasıyla 8,91; 8,30; 5,50; 3,96; 3,80; 2,18; 1,67 ve 10,51 IU/L olarak hesaplanmıştır. Aşım günü, 21., 35. ve 104. günler ile doğum sonrası elde edilen adenozin deaminaz düzeyleri istatistik yönden farklı çıkmıştır ( $P < 0,05$ ).

Sonuç olarak, koyunlarda gebelik dönemi ilerledikçe serum adenozin deaminaz düzeyinde önemli düşüşler olduğu, bu düşüşün aşım sonrası 21. günde bile belirlenebileceği ve gebeliğin ilerlemesine paralel adenozin deaminaz düşüşlerinin normal bir gebeliğe işaret edebileceği, gebeliğin ve gebelik dönemlerinin klinik olarak tanısında ve izlenmesinde yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Koyun, Gebelik, Adenozin deaminaz, Serum

### Serum Adenosine Deaminase Levels in Different Periods of Pregnancy in Ewes

**Abstract:** The levels of adenosine deaminase in different periods of pregnancy and after parturition were investigated in 13 ewes. Blood samples were collected on the day of mating and on days 10, 21, 35, 75, 104, 144 of pregnancy and on day 10 after parturition. Sera were harvested from these samples and adenosine deaminase levels were assayed as IU/L.

Adenosine deaminase levels were high on the day of mating and after parturition but decreased during pregnancy. The lowest level was assayed just before parturition. Levels at the sampling times were 8.91, 8.30, 5.50, 3.96, 3.80, 2.18, 1.67 and 10.51 IU/L, respectively. Adenosine deaminase levels were different at mating time, on days 21, 35 and 104 and after parturition ( $P < 0.05$ ).

It was concluded that serum adenosine deaminase levels decrease significantly from the period of pregnancy onwards. This decrease can be determined as early as day 21. This condition of this enzyme may indicate normal pregnancies and it may be useful for clinical diagnosis and observation of pregnancy or pregnancy period.

**Key Words:** Ewe, Pregnancy, Adenosine deaminase, Serum

### Giriş

Adenozin deaminaz (ADA), adenozin ve deoksiadenozin'in sırasıyla inozin ve deoksiinozin'e deaminasyonunu katalize eder (1, 2, 3). Tüberküloz tanısı

için torasik ve abdominal sıvılarda ADA ölçümlerinin önemi bulunmaktadır (1, 3). Tüberkülozdan kaynaklanan vücut sıvılarında yüksek düzeyde ADA bulunması T lenfositlerin aktivasyonunu ve sellüler immün cevabı

yansıtmaktadır. (3). İnsanlarda tifo hastalığında serum adenozin deaminazının özellikle de ADA2 allelinin monosit/makrofaj aktivasyonunun bir belgesi olarak kabul edilebileceği ve tanıda değeri olabileceği bildirilmiştir (4). Sığırlarda da insana benzer şekilde serum ADA ölçümlerinin lenfositozisle kendini gösteren subklinik olguların belirlenmesinde lökozem bir belirleyici olarak veya gelişmesi kaçınılmaz olan sığır lökozunun tespitinde faydalı olacağı belirtilmiştir (5). Kedi ve diğer bazı hayvanların farklı dokularındaki ADA dağılımları karşılaştırıldığında dalak ve duodenumda yüksek, kanda, beyinde, kaslarda, pankreas ve testislerde ise düşük enzim aktiviteleri bulunmuştur. Kedilerin plasentasında ve akciğerinde kısmen yüksek enzim aktivitesi tespit edilmiştir (2).

İmmun sistem için purin metabolizmasının büyük önemi bulunmaktadır. Ağır bileşik immün yetersizlik (SCID) terimi B ve T lenfositlerin gelişim bozukluğunu kapsamakta ve ağır bir lenfopeni, hümorale ve hücresele immün yanıt yetmezliği söz konusu olmaktadır (6, 7, 8). SCID'lerin otozomal resesif tipinin %50'sinde ADA eksikliği saptandığı ifade edilmektedir (8).

Çeşitli hastalıklardan etkilenen hayvanların serum ADA seviyelerinin normal sınırları aştığı izlenmiştir. İyi kondisyondaki hayvanlarda ADA seviyeleri sabit denebilecek değerleri korumaktadır. Durum kötüleştğinde ADA aktivitesi artmaya veya azalmaya başlamaktadır ve süreklilik arz etmemektedir. Bazı vakalarda ölümden hemen önce aniden artmaktadır. Sayılan özelliklerden yararlanılarak serum ADA aktivitesinin veteriner hekimlikte yardımcı tanı aracı olarak faydalı olduğu bildirilmiştir (9).

Gebe olmayan koyunlarda Ocak ve Ekim ayları arası dönemde yağ dokudaki adenozin deaminaz aktivitesinde önemli bir değişiklik olmadığı, laktasyonda ise adenozin deaminaz'da bir yükselme görüldüğü ve gebeliğin bu enzimin yağ dokudaki aktiviteleri üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı ifade edilmiştir (10). Diğer taraftan da, sağlıklı ineklerde serum ADA seviyelerinin en düşük değere gebelikte ulaştıkları belirtilirken (11, 12), gebe koyun serumunda bu enzimin durumu hakkındaki bilgilerin eksik olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada, koyunlarda gebeliğin başlangıcındaki, ilerleyen çeşitli dönemlerdeki ve doğumdan hemen sonraki serum adenozin deaminaz düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Materyal olarak 13 adet Karakaş ırkı koyun kullanıldı. Koyunlardan aşım günü, aşımından sonra 10., 21., 35., 75., 104. ve 144. günlerde ve doğumdan 10 gün sonra kan alınarak serumları çıkartıldı. Serumlar aynı gün laboratuvarında işlenerek adenozin deaminaz düzeyleri IU/L cinsinden belirlendi.

Adenozin deaminaz düzeyi modifiye Bertholet reaksiyonu ile Martinek metoduna göre kolorimetrik olarak tespit edildi (13).

Yukarıda bildirilen dönemlere ait adenozin deaminaz ortalamaları varyans analizi ile karşılaştırıldı. Dönemler arası farklılıkların önemliliği Duncan testi ile analiz edildi (14).

## Bulgular

Koyunlarda aşım günü ve doğum sonrasında elde edilen yüksek düzeylerdeki adenozin deaminaz, gebelik dönemi ilerledikçe düşmüş ve doğuma en yakın zamanda en düşük değerler elde edilmiştir. Aşım günü, doğum sonrası ve gebeliğin 10., 21., 35., 75., 104. ve 144. günlerinde elde edilen adenozin deaminazın istatistik analiz bulguları Tablo 1 ve Şekil 1'de sunulmuştur.

## Tartışma

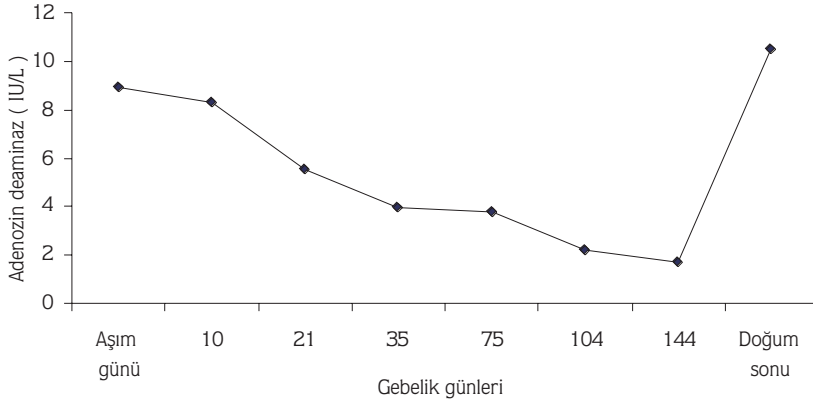
Gebelikte adenozin deaminaz ile ilgili olarak fare (15, 16), insan (17, 18), ve sığırlarda (11, 12) çeşitli araştırmalar yapıldığı izlenmekte ancak gebe koyunlarda

Tablo 1. Koyunlarda aşım günü, gebeliğin 10., 21., 35., 75., 104., 144. günleri ve doğumdan 10 gün sonra elde edilen serum adenozin deaminaz düzeylerinin varyans analizi.

Dönemler	n	x	Sx
Aşım günü	13	8,91 b	0,47
10. gün	13	8,30 b	0,44
21. gün	13	5,50 c	0,31
35. gün	13	3,96 d	0,30
75. gün	13	3,80 d	0,28
104. gün	13	2,18 e	0,27
144. gün	13	1,67 e	0,20
Doğum sonu	13	10,51 a	0,47
F		***	

\*\*\*P<0.001

abcde: Farklı harflerle gösterilen değerler arası fark önemli (P<0.05).



Şekil 1. Koyunlarda aşım günü, gebeliğin 10., 21., 35., 75., 104., 144. günleri ve doğumdan 10 gün sonra elde edilen serum adenozin deaminaz düzeyleri.

serum adenozin deaminaz düzeyi hakkındaki bilgiler eksik bulunmaktadır.

Adenozin deaminaz ( ADA ) enzimi fare plasentasında yüksek düzeylerde bulunmakta ve purin metabolizması için gerekli olmaktadır. Bu enzimden eksikliği olan fötüslerin bağlı oldukları plasentada da enzim eksikliği olmakta ve ağır purin metabolik rahatsızlık ve hepatosellüler bozukluk nedeniyle fötüsler ileri gelişim döneminde ölmektedirler (19). ADA eksikliği olan fötüslerin plasentalarına bir ADA geninin verilmesi ile perinatal ölümden kurtarılabildikleri bildirilmektedir (20). Trofoblast hücreleri özel ekstraembriyonik hücrelerdir. Bunlar implantasyon ve plasantasyon sürecinde önemli rol oynamaktadırlar (21). ADA, chorioallantoic plasentanın trofoblast hücrelerinde yoğunlaşmakta, embriyonik ve fetal gelişim için esas teşkil etmektedir (22). Erken postimplantasyon dönem boyunca hem maternal olarak elde edilen decidual hücrelerde hem de zigottan elde edilen trofoblast hücrelerde yüksek düzeyde ADA görülmektedir. Gebeliğin erken postimplantasyon periyodunda sadece trofoblast hücrelerde ADA bulunması embriyo yaşamı için yeterli iken, gebelik bölgesinde hem decidual hem de trofoblast hücreler ADA yönünden yetersiz ise embriyolar erken postimplantasyon dönemde ölmektedirler. Decidual ADA'nın eksik olduğu gebelik bölgelerinde ağır purin metabolizması bozuklukları gözlenmektedir (16). Organogenezis boyunca embriyonal plazmada da yüksek düzeylerde ADA aktivitesi ve immunoreaktivite tespit edilmiş fakat embriyonun diğer dokularında sadece düşük seviyelerde ADA aktivitesi görülmüştür. Erken postimplantasyon gelişim dönemi boyunca maternal-föetal yüzü oluşturan dokulardaki ADA'nın sıkı bir şekilde ayarlandığı ifade edilmiştir (23). Trofoblastdaki fötal ADA plasenta için önemli olabilirken, antimezometrial decidua'daki maternal ADA'nın uterus

ortamındaki embriyonun uterusu yerleşimi sırasında rol oynayabileceği bildirilmiştir (24).

Gebe koyun plazmasında doğumdan önce 70-43., 42-22., 21-15., 14-8. ve 7-1. günlerdeki ADA düzeyleri arasında önemli farklılıklar olduğu belirtilmiştir (25). Serum ADA aktivitelerinin gebe olmayan ineklerde 123,4 ve gebe ineklerde 81,4 nkat/litre olduğu (11) ve sağlıklı süt ineklerinde serum ADA seviyesinin en düşük değere gebelik döneminde ulaştığı (12) ifade edilmiştir. Kadınlarda gebeliğin 1., 2., ve 3. dönemleri arasında ADA düzeyleri farklı çıkmamış ise de gebe ve gebe olmayanlar arasında önemli konsantrasyon farkları bildirilmiştir (17).

Koyunlarda yapılan bu çalışmada da, ADA düzeylerinin gebelikte düştüğü izlenmiş ve gebeliğin çeşitli dönemlerinde elde edilen değerler arasında önemli farklar bulunmuştur. Gebeliğin ilerlemesine paralel bir düşüş izlenmiş ve doğuma en yakın dönemde en düşük değer elde edilmiştir (Tablo 1 ve Şekil 1). İntrauterin koyun fötüsleri üzerinde yapılan bir çalışmada (26), histerotomi ile göbük kordonuna intravenöz ADA verildiğinde adenozin'in azaldığı, plazma adenozini'nin koyun fötüsü veya yeni doğan yavru için bir enerji durumu habercisi rolü oynayabileceği ve bu suretle oksijen temini ve oksijen talebi arasındaki dengenin devamına katkı sağlayabileceği belirtilmiştir. Çalışmada gebelik ilerledikçe ADA seviyesinin düşmesi, yukarıda bildirildiği gibi fötüsün büyümesi ve enerji depolaması için adenozinin yüksek ve dolayısıyla adenozini parçalayan enzim olan ADA'nın düşük olması ihtiyacından ileri gelebilir veya başka literatürde (17) belirtildiği şekilde gebelikte hücrel bağışıklığın baskılanmasının bir belirtisi olabilir.

Sonuç olarak, koyunlarda gebelik dönemi ilerledikçe serum adenozin deaminaz düzeyinde önemli düşüşler olduğu, bu düşüşün aşım sonrası 21. günde bile belirlenebileceği ve gebeliğin ilerlemesine paralel adenozin

deaminaz düşüşlerinin normal bir gebeliğe işaret edebileceği, gebeliğin ve gebelik dönemlerinin klinik

olarak tanısında ve izlenmesinde yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

## Kaynaklar

1. Dwivedi, M., Misra, S.P., Misra, V., Kumor, R.: Value of Adenosine Deaminase Estimation in the Diagnosis of Tuberculous Ascites. *Am. J. Gastroenterol.* 1990; 85(9): 1123-1125.
2. Hirschberger, J., Koch, S.: Validation of the Determination of the Activity of Adenosine Deaminase in the Body Effusions of Cats. *Res. Vet. Sci.* 1995; 59: 226-229.
3. Hirschberger, J., Koch, S.: Validation of an Adenosine Deaminase Assay and Its Use in the Evaluation of Body Fluids in Dogs. *Veterinary Practice Publishing Company, California*, 1996.
4. Ungerer, J. P. J., Burger, H. M., Bissbort, S. H., Vermaak, W. J. H.: Adenosine Deaminase Isoenzymes in Typhoid Fever. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1996; 15: 510-512.
5. Yasuda, J., Tanabe, T., Hashimoto, A., Too, K.: Adenosine Deaminase (ADA) activity in tissues and sera from normal and leukaemic cattle. *Br. Vet. J.* 1996; 152: 485-488.
6. Sasaki, S.: Pathogenetic significance of adenosine deaminase in autoimmune diseases. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi.* 1984; 58(2): 219-230.
7. Magnuson, N. S., Perrymon, L. E., Mason, P. H., Marta, K. M.: Distribution of enzymes of purine metabolism in lymphocytes of horse, *Equus Caballus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1985; 81B(2): 459-465.
8. Gülmezoğlu, E., Ergüven, S.: İmmunoloji. Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 1994.
9. Tanabe, T.: Adenosine deaminase activities in the sera and tissues of animals and their clinical significance. *Jpn. J. Vet. Res.* 1993; 41(1): 52.
10. Vernon, R. G., Taylor, E.: Enzymes of adenosine metabolism of sheep adipose tissue: changes in activity with season, pregnancy and lactation. *Horm. Metab. Res.* 1986; 18(6): 369-373.
11. Synwall, R., Kolb, E., Grundel, G., Schineff, C., Schimidh, U.: Activity of adenosine deaminase, 5'-nucleotidase and of Mg-, Na, K- and Ca-ATPase in supernatant and homogenate of various tissues and of adenosine deaminase in the serum of cattle. *Arch. Experimen. Veterinarmed.* 1987; 41(2): 147-159.
12. Chikuma, S.: Clinicopathological studies of serum adenosine deaminase activity in cattle. *Jpn. J. Vet. Res.* 1997; 45(2): 125-126.
13. Glick, D.: Enzymatic methods used for diagnosis, methods of biochemical analysis. Vol. XIII, Interscience Publishers, John Wiley. 344-345, 1965.
14. Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F.: İstatistik Metodlar I. A. Ü. Ziraat Fak., Yayın No: 861, Ankara, 1983.
15. Blackburn, M. R., Gao, X., Airhart, M. J., Skalko, R. G., Thompson, L. F., Knudsen, T. B.: Adenosine levels in the postimplantation mouse uterus: quantitation by HPLC-fluorometric detection and spatiotemporal regulation by 5'-nucleotidase and adenosine deaminase. *Dev. Dyn.* 1992; 194: 155-168.
16. Blackburn, M. R., Knudsen, T. B., Kellems, R. E.: Genetically engineered mice demonstrate that adenosine deaminase is essential for early postimplantation development. *Development.* 1997; 124(16): 3089-3097.
17. Jaqueti, J., Martinez-Hernandez, D., Hernandez-Garcia, R., Navarro-Gallar, F., Arenas-Barbero, J.: Adenosine deaminase in pregnancy serum. *Clinical Chemistry.* 1990; 36(12): 2144.
18. Lucarini, N., Nicotra, M., Gloria-Bottini, F., Borgiani, P., Amante, A., Mutinelli, C., Signoretti, F., Torre, M., Bottini, E.: Interaction between ABO blood groups and ADA genetic polymorphism during intrauterine life. A comparative analysis of couples with habitual abortion and normal puerperae delivering a live-born infant. *Hum. Genet.* 1995; 96(5): 527-531.
19. Blackburn, M. R., Wakamiya, M., Caskey, C. T., Kellems, R. E.: Tissue-specific rescue suggests that placental adenosine deaminase is important for fetal development in mice. *J. Biol. Chem.* 1995; 270(41): 23891-23894.
20. Blackburn, M. R., Datta, S. K., Wakamiya, M., Vartabedian, B. S., Kellems, R. E.: Metabolic and immunologic consequences of limited adenosine deaminase expression in mice. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 15203-15210.
21. Shi, D., Kellems, R. E.: Transcription factor AP-2gamma regulates murine adenosine deaminase gene expression during placental development. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(42): 27331-27338.
22. Shi, D., Winston, J. H., Blackburn, M. R., Datta, S. K., Hanten, G., Kellems, R. E.: Diverse genetic regulatory motifs required for murine adenosine deaminase gene expression in the placenta. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 2334-2341.
23. Knudsen, T. B., Green, J. D., Airhart, M. J., Highley, H. R., Chinsky, J. M., Kellems, R. E.: Developmental expression of adenosine deaminase in placental tissues of the early postimplantation mouse embryo and uterine stroma. *Biol. Reprod.* 1988; 39: 937-951.
24. Knudsen, T. B., Blackburn, M. R., Chinsky, J. M., Airhart, M. J., Kellems, R. E.: Ontogeny of adenosine deaminase in the mouse decidua and placenta: immunolocalisation and embryo transfer studies. *Biol. Reprod.* 1991; 44: 171-184.
25. Kolb, E., Lippmann, R., Schwabe, H., Kirbach, H., Kricke, A., Leo, M., Wahren, W., Vallentin, G.: The concentration of ascorbic acid, total protein, alpha-amino-N, glucose, 3-hydroxybutyrate and cholesterol and the activity of adenosine deaminase in the blood of sheep in five different periods of pregnancy and the content of ascorbic acid in 14 tissues. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 1993; 106(1): 10-14.
26. Karimi, A., Ball, K. T., Power, G. G.: Exogenous infusion of adenosine depresses whole body O<sub>2</sub> use in fetal/neonatal sheep. *J. Appl. Physiol.* 1996; 81(2): 541-547.