



Sıtma Hastalarında Serum Adenozin Deaminaz, Guanaz Aktiviteleri ve Ürik Asit Düzeylerinin İncelenmesi

Serum Adenosine Deaminase, Guanase Activities and Uric Acid Concentrations in Patients With Vivax Malaria

Necmettin AKTEPE¹Özcan EREL¹Şenel AVCI¹Abdurrahim KOÇYİĞİT¹

Özet

Pürin nükleotid metabolizmasının anahtar enzimleri olan, adenozin deaminaz, guanaz enzim aktiviteleri ve metabolizmanın son ürünü olan ürik asit konsantrasyonu 35 sıtma hastasının serumunda araştırılarak 32 sağlıklı bireyin değerleriyle karşılaştırıldı. Adenozin deaminaz aktivitesi kinetik yöntemle ve guanaz aktivitesi kolorimetrik yöntemle (Bertholet) ölçüldü. Serum adenozin deaminaz aktivitesi sıtma hastalarında 31.9 ± 6.1 IU/L sağlıklı bireylerde, 22.7 ± 2.9 IU/L ($p < 0.001$), guanaz aktivitesi hastalarda 2.4 ± 0.4 IU/L, sağlıklı bireylerde, 1.7 ± 0.7 IU/L ($p < 0.001$) ve ürik asit konsantrasyonu hastalarda 5.1 ± 1.4 mg/dl, sağlıklı bireylerde 4.7 ± 1.5 mg/dl ($p < 0.05$) olarak bulundu. Ölçülen parametreler arasında önemli korelasyon saptandı. Konağın pürin metabolizmasındaki artış ürik asit düzeyinin artışına yol açmış olabilir. Artmış olan adenozin deaminaz, guanaz aktiviteleri ve ürik asit konsantrasyonunun hastalığa ikincil olarak gelişmiş olabileceği kanısındayız.

Anahtar kelimeler: sıtma, adenozin deaminaz, guanaz, ürik asit.

Abstract

The activities of adenosine deaminase and guanase, which are the key enzymes of purine-nucleotide metabolism, and concentration of uric acid which is the end product of purine metabolism were investigated in serum of the patients with vivax malaria and compared with those of healthy subjects. Thirty five patients and 32 healthy subjects were included into the study. Serum adenosine deaminase activity was measured kinetically and, guanase

activity was determined by Bertholet reaction. Mean serum adenosine deaminase activity was found the in patients as 31.9 ± 6.1 IU/L, in healthy persons as 22.7 ± 2.9 IU/L ($p < 0.001$) guanase activity in patients as 2.4 ± 0.4 IU/L, in healthy persons as 1.7 ± 0.7 IU/L ($p < 0.001$), and mean uric acid concentrations in patients as 5.1 ± 1.4 mg/dl, in healthy persons as 4.7 ± 1.5 mg/dl ($p < 0.05$). A significant correlation among the mentioned parameters were found. The increase in purine catabolism of host leads to the increase of uric acid formation. The increase in the activities of adenosine deaminase, guanase and uric acid concentrations in serum may be induced by the disease, and the determination of the parameters may be useful for the following of the clinical status of the disease.

Key words: malaria, adenosine deaminase, guanase, uric acid.

GİRİŞ VE AMAÇ

Plazmodium türü protozoonlar ara konakçı olarak omurgalılarda yaşayan, hücre içi parazitleri olup, eritrosit içinde ve diğer bazı doku hücrelerinde çoğalabilirler. Asıl konakçıları, çeşitli Anofel cinsi sivrisinek türleridir. Anofel cinsi bir dişi sivrisinek ile insana bulaşır (1). Çoğalmaları ve yaşamlarını sürdürebilmeleri için pürin metabolitlerinin dışardan alınmasına gereksinimleri vardır.

Plazmodium parazitleri enerji ihtiyaçları ve çoğalabilmeleri için gerekli olan pirimidin bazlarını sentezleyebilirler, ancak pürin bazlarını sen-

tezleyemezler. Pürin nükleotidlerini öncül bileşiklerinden "yan yol" ile ya da eritrosit membranından bu bileşiklerin geçişini kolaylaştırarak sağlarlar (2). Ayrıca ATP katabolizmasından sağlanan hipoksantin eksojen pürin kaynağı olarak önemli bir yeri vardır (3-5).

Adenozin deaminaz (ADA, E.C. 3.5.4.4) ve guanaz (guanozin deaminaz: GUA, E.C. 3.5.4.3) pürin metabolizma yolunun iki önemli enzimidir. Adenozin deaminaz; pürin yıkım yolunda adenozini deaminasyon ile inozine geri dönüşsüz olarak çeviren bir enzimdir. İnozin pürin nükleozid fosforilaz enzimi ile hipoksantine, hipoksantin, ksantin oksidaz enzimi ile ksantine yıkılır. Guanaz, guanini hidrolitik deaminasyon ile kataliz ederek ksantine yıkar. Her iki bazın yıkılması sonucu oluşan ksantin, ksantin oksidaz ile ürik aside kadar yıkılır.

Daha önce yaptığımız çalışmada, sıtma hastalarında serum ve eritrosit ADA aktivitelerini yüksek bulmuştuk (6). Bu çalışmamızda ADA aktivite ölçümüne ek olarak purin metabolizmasında diğer bir anahtar enzim olan GUA aktivitesi ve pürin katabolizmasının son ürünü olan ürik asit konsantrasyonunu araştırdık. Sıtma hastalarında purin metabolizmasının incelenmesi açısından çalışmamız bilgilerimize göre ilk rapordur.

Pürin nükleotidlerinin enzimleri olan ADA, GUA aktiviteleri ve son ürün olan ürik asit konsantrasyonu sıtma hastalarında araştırılarak sağlıklı bireylerin değerleriyle karşılaştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Şanlıurfa ili Siverek ilçesi Sıtma Savaş Dispanserine başvuran, klinik olarak sıtma tanısı konulan ve laboratuarda Giemza boyama yöntemiyle yapılan kalın damla ve periferik kan yayması testleriyle tanısı desteklenen, 15-45 yaşlar arası 35 gönüllü sıtma hastası ve aynı yaşlar arası 32 sağlıklı birey çalışmaya alındı. Hastalardan hiçbirisi antimalarial ilaç tedavisi altında değildi.

Hastalar ve sağlıklı bireylerden gece açlığının ardından alınan venöz kanlar, serumları ayrıldıktan sonra tetkikleri yapılncaya kadar, -80°C de 20 gün bekletildi. Serum ADA aktivitesi, otomatik analizörle (Hitachi 911, Roche Diagnostics) Ellis'in kinetik yöntemiyle ölçüldü (7). GUA aktivitesi, Bertholet reaksiyonu ile kolorimetrik olarak spektrofotometre ile (Cecil 3000, England) ölçüldü (8). Her iki enzim aktivitesi IU/L olarak ifade edildi.

Serum ürik asit konsantrasyonu, enzimatik ko-

lorimetrik olarak, ürikaz metoduna göre ticari kit (Roche Diagnostics) kullanılarak otomatik analizör ile ölçüldü.

Bulgular "SPSS for Windows Release 6.0" bilgisayar programı ile değerlendirildi. Veriler "Student's t testi" ve korelasyon analizi testleri ile değerlendirildi.

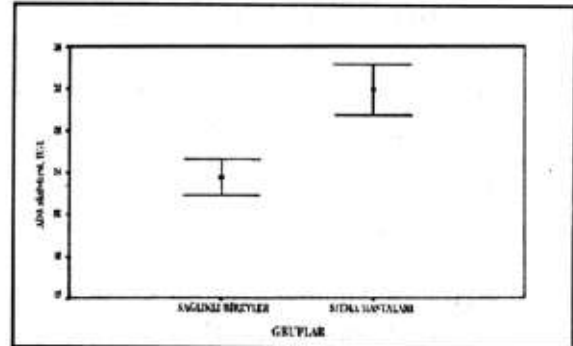
BULGULAR

Tablo I de ve Şekil 1,2,3 de görüldüğü gibi sıtma hastalarında serum ADA, GUA aktiviteleri ve ürik asit konsantrasyonları sağlıklı bireylerinkine göre yüksek bulundu.

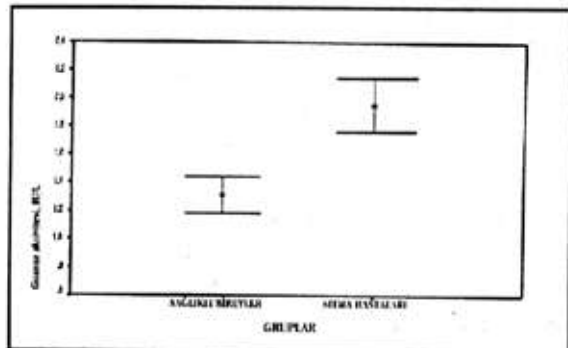
Tablo I.

	Sıtma Hastaları (n=35)	Sağlıklı Kişiler (n=32)	p
ADA, IU/L	31.9±6.1	22.7±2.9	<0.001
GUA, IU/L	2.4±0.4	1.7±0.7	<0.001
Ürik asit, mg/dl	5.1±1.4	4.7±1.5	<0.05

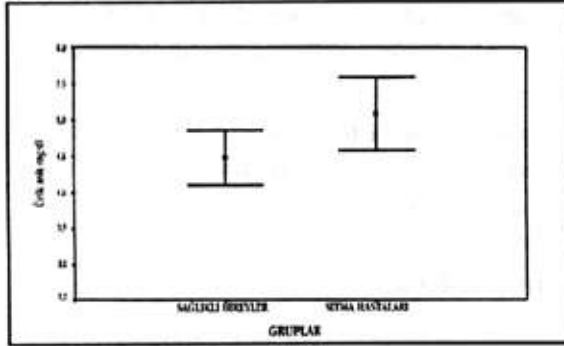
* Değerler ortalama ± standart sapma (± SS) olarak verilmiştir. P< 0.05 olan değerler Student's t testine göre anlamlıdır.



Şekil 1. Sağlıklı bireyler ile sıtma hastalarında serum Adenosine deaminaz (ADA) aktiviteleri



Şekil 2. Sağlıklı bireyler ile sıtma hastalarının serum guanaz (GUA) aktiviteleri.



Şekil 3. Sağlıklı bireyler ile sıtma hastalarının serum ürik asit konsantrasyonları.

Serum ADA ve GUA aktiviteleri arasında çok önemli düzeyde pozitif ilişki ($r= 0.69$, $p<0.001$) bulunurken, ürik asit ile enzim aktiviteleri arasındaki pozitif ilişkilerin önemi azdı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Plasmodium türü parazitler, dişi Anofel cinsi sivrisineklerle insana bulaştırıldıktan sonra üremeleri için seksüel ve sporogonik olarak iki evre geçirir. İnsandaki yaşamlarının ilk evresini karaciğerinin parankim hücrelerinde geçirirler (ekzoeritrositik evre). Daha sonra bu aseksüel merozoidler parankim hücrelerini parçalayarak kan dolaşımına geçer ve eritrosit içine yerleşirler (1). Eritrosit içine giren *P. vivax* merozoidleri her 48 saatte aseksüel olarak çoğalırlar. Çoğalmanın olabilmesi için çok miktarda pürin ve pirimidin bileşiklerine gereksinim duyarlar. Parazit bu bileşikleri elde edemezse çoğalamaz (3,4,9). Gerekli pürin bileşiklerini iki yolla sağlarlar. Birincisi; eritrosit içine pürin ve pirimidinlerin dolaşımdan doğrudan taşınımı (10), diğeri ise; pürin "yan yolu" ve pirimidinin yeniden sentezidir (1,12).

İnsan olgun eritrositi pürin bazlarını yeniden sentezlemek açısından zayıf kapasiteye sahiptir, bu nedenle pürini, pürin öncül bileşiklerinden sağlar (3). Yapılan deneysel çalışmalar göstermiştir ki, parazitin ihtiyacı olan ve parazite kolayca diffüze olabilen pürin bileşikleri adenozin, hipoksantin ve guanindir (11,13,14). Parazitin enerji ve nükleik asit sentezi için en fazla kullandığı bileşik ise hipoksantindir. (11,15,16) Hipoksantin, dışardan direkt diffüzyonla alınır ya da adenozinin deaminasyonu ile inozin ve onun fosforilasyonu ile sentezlenir (2). Bu sentez, enfekte eritrositin ve parazit hücresinin sitozolünde meydana gelir (9,15,16). Eritrosit içine giren adenozin iki yolla metabolize olur. Birincisi, adenozin kinaz aracılığı ile AMP'e doğrudan çev-

rilmesi, diğeri ise deaminasyon ile inozine daha sonra hipoksantine ve IMP'a giden yoldur (17,18). Normal fizyolojik koşullarda eritrositte adenozin düşük konsantrasyonda bulunur. Adenozinin düşük konsantrasyonda olduğu durumda hücrede adenozin kinaz enzimi baskındır. Eritrositin paraziter enfeksiyonunda zarar adenozine karşı geçirgenliği artar. Bu nedenle paraziter enfeksiyonla, çeşitli doku hasarlarında olduğu gibi adenozin eritrosit içinde yüksek konsantrasyona ulaşır. Adenozinin yüksek konsantrasyona ulaştığı durumda adenozin deaminaz enzimi baskın duruma geçer. Buna paralel olarak ADA aktivitesi de 30-60 kat kadar artabilir (3,9,19,20). Adenozinin bol bulunduğu ya da adenozini AMP'ye dönüştüren adenozin kinaz enziminin inhibe edildiği ve ADA enziminin baskın olduğu bu yolda, adenozin nükleotidlerinin sentezinde, ADA düzenleyici bir öneme sahip olur (9-12).

GUA, pürin metabolik yolunda guanin bazını ksantine ve amonyağa kataliz eder. Enzim hayvan ve insan dokularında bulunur. İnsanlarda karaciğer ve beyinde yüksek aktivitede ve diğer organlarda ise düşük aktivitede bulunur (21). Karaciğerin parankim hücrelerinin hasarında serum GUA aktivitesinde önemli ölçüde artış görülür (22). GUA, hücre içi guanin bazı havuzuna etkisi nedeniyle önemlidir. Guanin doğrudan GMP'e çevrilebilir, ancak onun ürünü olan ksantin, GMP'e dönüşemez. Ksantin oksidaz aracılığı ile ürik asite metabolize olur.

P. vivax, *P. falciparum*dan farklı olarak ilk eritrosit evresinden sonra uzun süre karaciğer hücreleri içinde çoğalmaya devam eder. Eritrosit dışındaki bu üreme dönemleri, eritrosit içi üreme dönemleriyle birlikte meydana gelerek, parazitin çevresel kandan kaybolmasından sonra da devam edebilir (1).

Reyes ve arkadaşları *P. falciparum* ile enfekte eritrositlerdeki pürin bileşikleri ve metabolizma enzimlerinin, enfekte olmamış eritrositlerdekine göre kalitatif ve kantitatif olarak farklı olduğunu belirtmişlerdir (9). Gero ve arkadaşları *P. falciparum* ile enfekte insan eritrositlerinde ve enfekte olmamış eritrositlerde pürin metabolizma enzimlerinin aktivitelerini ölçmüş, enfekte eritrositlerdeki enzim aktivitelerinin enfekte olmayanlara göre 30-35 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (3). Parazit pürin ve pirimidin metabolizmasını eritrosit içinde hızlandırarak kendisi için gerekli enerji kaynağı olan

ATP ve üremesi için gerekli olan nükleik asit sentezinde kullanılmaktadır.

Çalışmamızda, sıtma hastalarında serum ADA ve GUA aktivitelerinin sağlıklı kişilere göre çok önemli oranda arttığı ve serum ürik asit konsantrasyonunun ise önemli düzeyde artış gösterdiğini saptadık. Daha önce yaptığımız çalışmada sıtma hastalarında serum ve eritrosit ADA aktivitelerini yüksek bulmuştuk (6). Serum ADA aktivitesindeki bu artış, parazitin yol açtığı konakta enzim aktivite artışı ve/veya eritrosit hücre hasarından, GUA aktivitesinde gözlenen artış, ADA aktivitesine yol açan mekanizmalara ilaveten parazitin karaciğerde yaptığı hasarın bir sonucu olabilir. Bu çalışmamızda sıtma hastalarında ürik asit konsantrasyonunun artışı serum ADA ve GUA aktivitelerindeki artıştan daha düşük bulunmuştur. Bu durum adenozin ve guaninin artan yıkımıyla oluşan hipoksantin ve ksantin bir kısmının son yıkım ürünü olan ürik asite kadar yıkılmadan, olasılıkla parazit ya da konak tarafından tekrar kullanılmış olabileceğini ve ürik asitin klirensinin ADA ve GUA enzimlerinin klirensinden hızlı olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Sıtma hastalarında serum ADA ve GUA aktiviteleri ve ürik asit konsantrasyonunun ölçümü, hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında ve hastanın kliniğinin değerlendirilmesinde yarar sağlayacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Heyneman D. (1987) The Plasmodia. Review of Medical Microbiology. (Eds: Jawetz E., Mernick J.L., Adelberg E.A. s. 549-52. Lange Medical Book. California.
2. Penny JI., Hall ST., Woodrow CJ., Covan GM., Gero AM., Krishna S. (1998). Expression of substrate-specific transporters encoded by plasmodium falciparum in Xenopus laevis oocytes. Mol Biochem Parasitol 93 (1) 81-9.
3. Gero A.M., O'Sullivan W.J. (1990) Purines and pyrimidines in malarial parasites. Blood Cells. 16, 467-84.
4. Sherman I.W. (1983) Metabolism and surface transport of parasitized erythrocytes in malaria. Ciba Found Symp. 94, 206-21.
5. Chulay J.D., Haynes J.D., Diggs C.L. (1983) Plasmodium falciparum: Assessment of in vitro growth by (3H) hypoxanthine incorporation. Exp. Parasitol. 55, 138-46.
6. Erel Ö., Koçyiğit A., Seyrek A., Avcı İ., Aktepe N. (1997) Serum erythrocyte and leucocyte adenosine deaminase activities in patients with vivax malaria in Turkey. J. Egypt. Soc. Parasitol. 27, 445-54.
7. Ellis C. Goldberg M. (1970) A NADH linked kinetic assay for adenosine deaminase activity J. Lab. Clin. Med. 76, 507-17.
8. Winsten S., Dalal F.R. (1972) Guanase. Manual of Clinical Laboratory Procedures for Non-Routine Problems. 130-2. CRC Press The Chemical Rubber Cleveland Ohio.
9. Hansen BD., Sleeman HK., Pappas PW. (1980) Purine base and nucleoside uptake in Plasmodium berghei and host erythrocytes. 66, 205-12.
10. Gero AM., Hall ST. (1997). Stimulated transport of adenosine, guanosine and hypoxanthine in cridia luciliae: metabolic machinery in which the parasite has a distinct advantage over the host. Int J Parasitol 27(2) 241-9.
11. Desai SA., Kroghsadt DJ., McCleskey EW. (1993) A nutrient-permeable channel on the intraerythrocytic malaria parasite. Nature 362. 643-6.
12. Sherman IW. (1988). The Wellcome trust lecture. Mechanisms of molecular trafficking in malaria. Parasitology 96 (suppl.) S57-S81.
13. Domin B A., Mahony W B., Zimmerman T B. (1988) Purine nucleobase transport in human erythrocytes. Reinvestigation with novel "inhibitor stop" assay. J. Biol. Chem. 263, 9279-84.
14. Webster HK., Whaun JM., Walker MD., Bean TL. (1984). Synthesis of adenosine nucleotides from hypoxanthine by human malaria parasites (Plasmodium falciparum) in continuous erythrocyte culture: inhibition by hadacidin but not alanosine. Biochem. Pharmacol. 33, 1555-7.
15. Yamada K A., Sherman IW. (1981) Purine metabolising enzymes of Plasmodium lophurae and its host cell, the ducling (Anas domestica) erythrocyte. Mol. Biochem. Parasitol. 2, 349-58.
16. Vandyk K., Trush M.A., Wilson M.E. (1977) Isolation and analysis of nucleotides from erythrocyte-free malarial parasites (Plasmodium berghei) and potential relevance to malaria chemotherapy. Bull. WHO 55, 253-64.
17. Dawicki DD., Agarwal KC., Parks RE. (1988). Adenosine metabolism in human whole blood. Effects of nucleoside transport inhibitors and phosphate concentration. Biochem. Pharmacol. 37, 621-26.
18. Hawkins CF., Kyd JM., Bagnara AS. (1980). Adenosine metabolism in human erythrocytes: a study of some factors which affect the metabolic fate of adenosine in intact red cells in vitro. Arch. Biochem. Biophys. 202, 380-7.
19. Dadonna PE., Wiesmann WP., Lambros C., Kelley WN., Webster HK. (1984). Human malaria parasite adenosine deaminase. Characterisation in host enzyme-deficient erythrocyte culture. J. Biol. Chem. 259, 1472-75.
20. Schimandle CM., Sherman IW. (1983). Characterisation of adenosine deaminase from the malarial parasite, Plasmodium lophurae and its host cell, the ducling erythrocyte. Biochem. Pharmacol. 32, 115-22.
21. Shaw T., Li J. Bowden DS., Cooksley G., Locarnini S.A. (1995). Serum guanase activity in hepatitis C virus infection. Purine and Pyrimidine Metabolism in Man VIII, Eds. Sahota and M. Taylor, Plenum Press, Newyork P475-82.
22. Ando T., Muraoka T., Okuda H. (1983). A sensitive spectrophotometric assay for guanase activity. Analitic. Biochem. 13, 295-301.