

Diyabetli köpeklerde kan HbA_{1c} düzeyleri*

Neslihan TAŞÇENE¹, Hilal KARAGÜL¹

¹ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı 06110 - Ankara.

Özet: Glikozun, proteinlere enzimatik olmayan bağlanması sonucu oluşan glikozile hemoglobinler büyük ölçüde kan glikoz derişimine bağlıdır; dolayısıyla hiperglisemide miktarları artar. Glikozile hemoglobinler, uzun bir süreç içindeki ortalama kan glikozu için bir gösterge oluşturur. Bu gösterge, kan şekerindeki kısa süreli dalgalanmalardan etkilenmez ve dolayısıyla diyabette kan şekeri kontrolünün nispeten daha doğru bir göstergesidir. Veteriner hekimliğinde, özellikle kedi ve köpeklerden kan alınması esnasında, strese bağlı hiperglisemiler görülebilmektedir. HbA_{1c} düzeyleri ise, strese bağlı oluşabilen hiperglisemiden etkilenmemektedir. Bu çalışmada diyabetli köpeklerde kan HbA_{1c} düzeylerinin değerlendirilmesi amacıyla kan plazma glikozu ile kan HbA_{1c} düzeyleri ölçülerek kontrol grubu değerleri ile karşılaştırılmıştır. Diyabetli ve kontrol grubu köpeklerde kan plazma glikoz değerleri sırasıyla 526.71±22 mg/dl, 97.80±2.93 mg/dl ölçülmüştür. HbA_{1c} düzeyleri ise diyabetli grupta % 3.11±0.4 kontrol grupta % 1.07±0.08 bulunmuştur. Kan HbA_{1c} ve glikoz düzeyleri diyabetli grupta kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli derecede yüksek (p<0.01) bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Diyabet, glikozile hemoglobin, HbA_{1c}, köpek.

Blood HbA_{1c} levels in dogs with diabetes mellitus

Summary: The phenomenon of glucose molecules binding to proteins by a nonenzymatic glycation mechanism are known as glycated hemoglobin which is directly related to the amount of blood glucose levels. The level of HbA_{1c} are increased in hyperglycaemia. Glycated Hb is an index of the mean blood glucose concentration over the long period. This index is not effected from the glycemic fluctuations in a short period. Therefore, HbA_{1c} can be a good sign for controlling the blood sugar in Diabetes mellitus. In veterinary medicine, hyperglycaemia can be seen in the stress conditions during the blood sample collection from cats and dogs. HbA_{1c} level is not effected from hyperglycemia in stress conditions. In this study, blood glucose and HbA_{1c} levels were analysed and compared with the control group levels for the evolutions of blood HbA_{1c} levels in dogs with Diabetes mellitus. The blood serum glucose levels in dogs with Diabetes mellitus and the control dogs were found to be 526.71±22 mg/dl and 97.80±2.93 mg/dl respectively. Moreover blood HbA_{1c} levels of diabetic and control dogs were found 3.11±0.4 % and 1.07±0.08 % respectively. The blood HbA_{1c} levels in Diabetes mellitus group in comparison to control group were found to be statistically higher (p<0.01).

Key words: Diabetes mellitus, dog, glycosylated haemoglobin, HbA_{1c}.

Giriş

Diabetes mellitus, köpeklerde sık rastlanan, kronik, metabolik bir hastalıktır. İnsülin yetersizliği veya noksanlığına bağlı olarak glikoz kullanımı bozulur, hiperglisemi ve glikozüri şekillenir (10, 16).

Tespit edilmiş en büyük hemoglobin tipi HbA'dır. Kandaki diğer küçük hemoglobin tipleri ise; HbA₂ (%2.5), HbF (%0.5), HbA_{1a} (%0.2), HbA_{1b} (%0.4) ve HbA_{1c} (%3-5)'dir. Küçük üyelerden olan HbA_{1c} düzeyi, diyabette artar (3). Bu artış, hiperglisemiye bağlı gelişir. Çünkü kanda artan glikoz molekülleri, hemoglobine dönüşümsüz olarak, enzimatik olmayan bir reaksiyonla bağlanır ve glikozillenmiş hemoglobin (HbA_{1c}) oluşur (3,20).

HbA_{1c}; hemoglobin molekülünün beta zincirinin amino ucuna glikoz molekülünün kimyasal olarak bağlanması sonucunda şekillenir. HbA_{1c}, hemoglobinin hem zincir içi lizin hem de amino ucundaki valin birimleri aracılığıyla glikozilasyona uğratılması sonucunda oluşur (10,22).

Normalde toplam hemoglobinin az bir kısmı, eritrositlerde glikozilasyona uğramış olarak bulunur. Bu glikozillenmiş hemoglobin (HbA_{1c}) miktarı, serum glikoz düzeyine ve eritrositlerin yarı ömrüne bağlı olarak değişir. Uzun süreli hiperglisemiler, HbA_{1c} düzeyinde artışa neden olur. HbA_{1c}, eritrositlerin yarı ömrü boyunca (60-90 gün) birikir ve HbA_{1c} düzeyi insanlarda ve köpeklerde 60-90 günlük glikoz düzeyini gösterir (8).

* Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Yapılan son çalışmalar, hiperglisemiye bağlı olarak organizmada oksidatif stresin şekillendiğini ve buna bağlı olarak da reaktif oksijen radikal (ROS) miktarlarının arttığını göstermektedir (4,21). Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresin diabetin patogenezinde rol aldığı bildirilmektedir(13,14,17).

Bu çalışmada, klinik diyabetli köpeklerdeki HbA_{1c} düzeylerinin belirlenmesi ve HbA_{1c}'nin diyabet takibinde kullanılabilirliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hayvan materyali: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı kliniğine gelen 7 diyabetli ve 10 sağlıklı köpek çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Köpeklerin ön bacak venalarından EDTA'lı tüplere kan örnekleri alınmıştır.

Kan glikoz tayini: EDTA'lı tüplere alınan kanlar, santrifüj edilmiş ve ayrılan plazmada enzimatik olarak otoanalizörde glikoz tayini yapılmıştır (Abbot Cat No: 8D29-01).

Hb tayini: HbA_{1c} hesaplamalarında kullanılmak üzere hemolizatta Hb tayini siyanmethemoglobin metoduna göre yapılmıştır (1).

HbA_{1c} tayini: HbA_{1c} tayini için, Hidroksimetilfurfural tiyobarbitürik asit testi (HMF-TBA) kullanılmıştır (23). Hidroksimetilfurfural-Thiobarbitürik asit testinin köpeklerde en uygun yöntem olduğu bildirilmiştir (12).

Diyabetli ve kontrol grubu köpeklere ait glikoz ve HbA_{1c} ortalama değerlerinin student-t testi ile istatistik analizleri yapılmıştır (9).

Bulgular

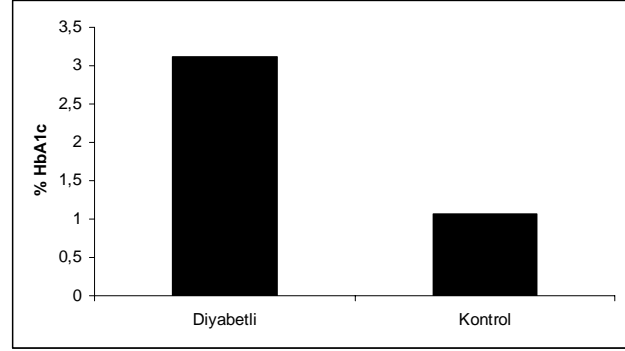
Diyabetli ve sağlıklı köpeklere ait plazma glikoz ve kan HbA_{1c} düzeyleri, Tablo 1, Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. Plazma glikoz düzeyleri, diyabetli ve kontrol grubu köpeklerde sırasıyla; 526.71±22 mg/dl ve 97.80±2.93 mg/dl tespit edilmiştir.

Kan HbA_{1c} düzeyleri ise, diyabetli köpeklerde; %3.11±0.4, kontrol grubu köpeklerde; %1.07±0.08 bulunmuştur. Diyabetli köpeklerde, hem plazma glikoz hem de kan HbA_{1c} düzeyleri kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur (p<0.01).

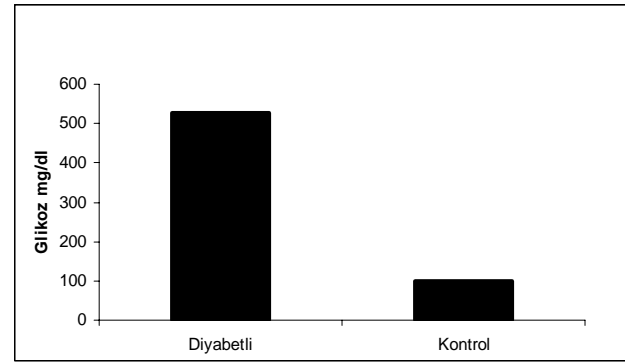
Tablo 1. Diyabetli ve sağlıklı köpeklere ait kan glikoz ve HbA_{1c} düzeyleri
Table 1. Blood HbA_{1c} and glucose levels in dogs with Diabetes mellitus

	Kontrol (n:10)		Diyabetli (n:7)	
	X±Sx	Min-Max	X±Sx	Min-Max
Glikoz (mg/dl)	97.80±2.93	85 - 112	526.71±22**	436 - 605
HbA _{1c} (%)	1.07±0.08	0.5-1.77	3,11±0,4**	1.82-4.5

** p < 0.01



Şekil 1. Diyabetli ve sağlıklı köpeklere ait HbA_{1c} düzeyleri
Figure 1. HbA_{1c} levels in healthy dogs and dogs with Diabetes mellitus.



Şekil 2. Diyabetli ve sağlıklı köpeklere ait kan glikoz düzeyleri
Figure 2. Glucose levels in healthy dogs and dogs with Diabetes mellitus.

Tartışma ve Sonuç

Diyabet hiperglisemi ve karbonhidrat, protein, lipid metabolizması bozukluklarıyla karakterize kronik, sistemik ve metabolik bir hastalıktır. Serbest radikal üretiminin arttığı ve/veya antioksidan mekanizmanın bozulduğu sistemlerde oksidatif stres artar (13,14,17). Uzun süren hiperglisemilerde, proteinlerin primer amino grupları ile glukoz arasındaki kimyasal reaksiyonlar sonucu proteinlerin enzimatik olmayan posttranslasyonel modifikasyonları şekillenir, aynı zamanda glukozun otooksidasyonu ile serbest oksijen radikalleri artar (11,13). Son yıllarda serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresin diabetin patogenezinde rol aldığı bildirilmektedir(13,14,17).

Çalışma sonucunda, diyabetli köpeklerde kan glikoz ve HbA_{1c} düzeylerinin, kontrol köpeklerindeki düzeylerden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Mahaffey ve Cornelius'un (16) yaptıkları bir çalışmada diyabetli, diyabetli olmayan ancak farklı hastalıklardan dolayı hospitalize edilen ve sağlıklı köpeklerde kan HbA₁ düzeyleri ölçülmüştür. HbA₁ düzeylerinin, diyabetli köpeklerin oluşturduğu grupta diğer iki gruptaki köpeklerdekinden daha yüksek bulunması HbA₁'in, köpeklerde diabetes mellitusun takibinde yararlı bir parametre olacağı kanısına varılmıştır.

Diyabetli ve değişik hastalıklar (sindirim problemleri, leishmaniasisli, anemili, dermatolojik problemler, üriner sistem problemleri, insülinomalı) saptanan köpeklerde kan HbA_{1c} düzeyleri incelenmiş ve diyabetli köpeklerde, kontrol köpeklerdeki düzeylerden daha yüksek bulunmuştur. İnsülinomalılarda kontrol köpeklerindeki düzeylerden daha düşük olduğu, diğer hastalıklara sahip köpeklerde ise kontrol köpeklerdeki düzeylere yakın olduğu saptanmıştır. Sağlıklı köpeklerde HbA_{1c} düzeyleri, % 1.39 ± 0.70 referans değerler olarak bildirilmiştir (19).

Dişi ve erkek olmak üzere farklı yaşlardaki ve östrus döngüsü farklı dönemlerindeki dişi köpeklerdeki kan HbA_{1c} düzeylerinin ölçüldüğü bir çalışmada ise, glikoz seviyeleri bakımından anöstrus ve proöstrustaki köpeklerde kan glikoz seviyesi düşük, diöstrustaki ve östrustaki köpeklerde ise yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın progesterona bağlı olabileceği belirtilmiştir (18). Progesteron, insulin antagonistlerindedir ve hiperglisemiye yol açan etkenlerdendir. Bu nedenle kan progesteron seviyesinin yüksek olduğu östrus ve diöstrus evrelerindeki köpeklerde kan glikoz seviyeleri yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte değişik yaşlardaki köpeklerde ve östrus döngülerinin farklı dönemlerindeki dişi köpeklerde kan HbA_{1c} düzeylerinin yaş, cinsiyet ve farklı siklus dönemlerinden etkilenmedikleri tesbit edilmiştir.

Hipoglisemili ve öglisemili köpeklerde glikoz ve HbA_{1c} arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmada (15) hiperglisemili ve hipoglisemili hayvanlarda anlamlı bir ilişki mevcut iken öglisemili hayvanlarda böyle bir korelasyon bulunmamıştır. Öglisemili hayvanlarda HbA_{1c} düzeyleri ortalaması hipoglisemililerdeki düzeylerden yüksek, hiperglisemililerdekinden ise düşük bulunmuştur.

Davison ve arkadaşlarının (5) yaptıkları bir çalışmada ise sağlıklı, diyabetli ve insülinomalı köpeklerde kan HbA_{1c} ve fruktozamin düzeyleri ölçülmüştür. Çalışma sonucunda HbA_{1c} düzeylerinin, diyabetli grupta insülinomalılarla sağlıklı hayvanlardakinden daha yüksek olduğu, insülinomalılarda düzeylerin sağlıklılardakinden de daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Diyabetli köpeklerin 7 ay boyunca takip edildiği bir çalışmada ise (6), düzenli olarak hayvanlara insülin takviyesi yapılmış ve bu periyot boyunca kan glikoz, HbA_{1c} ve fruktozamin düzeyleri ölçülmüştür. HbA_{1c} düzeyleri, sağlıklı hayvanlarda % 3.5'dan düşük bulunmuş iken diyabetli hayvanlarda %3.4-6.8 arasında tespit edilmiştir.

Farklı ırklardan diyabetli köpeklerde insülin uygulanmasını takiben HbA_{1c} ile fruktozamin düzeyleri ölçülmüş, ancak insülin dozu ve uygulanma sıklığı ile

HbA_{1c} ve fruktozamin düzeyleri arasında istatistik olarak önemli bir ilişki bulunamamıştır (7).

Diabetes mellitusun, sürekli takip edilmesi gereken bir metabolik bozukluk olduğu ve bunun takibi için çeşitli metotlar bulunduğu, HbA_{1c} düzeylerinin takibinin de bu teknikler arasında önemli yer aldığı bildirilmiştir (2).

HMF-TBA yöntemi ile HbA_{1c} düzeyinin saptanması, köpekler için en uygun yöntem olarak bildirilmektedir. Çünkü diğer yöntemler üremi, lipemi gibi durumlardan etkilenirken HMF-TBA yöntemi etkilenmemektedir. Ayrıca insülin uygulanan köpeklerde de HMF-TBA yöntemiyle HbA_{1c} düzeyleri ölçülebilmekte ve insülin, HbA_{1c} düzeyi etkilememektedir (10).

Bu çalışmada HMF-TBA yöntemiyle sağlıklı ve diyabetli köpeklerdeki kan HbA_{1c} düzeyleri sırasıyla; % 1.07 ± 0.08 ve % 3.11 ± 0.4 bulunmuştur. Diyabetli köpeklerin kan HbA_{1c} düzeyleri istatistik olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$).

Sonuç olarak; HbA_{1c} düzeylerinin ölçümü ile hem diyabetin klinik tanısı hem de kontrolü desteklenebilmektedir. Klinik olgular yönünden, köpeklerde deneysel diyabet modelleriyle de çalışılarak köpek Diabetes mellitusu'nun klinik takibinde HbA_{1c} düzeyleri değerlendirilebilir.

Kaynaklar

1. **Anonim** (1970): *Clinical Laboratory Medico-Chemical Investigation Methods*. 6-9. In: Merck 11th ed. Darmstadt.
2. **Bennett N** (2002): *Monitoring techniques for diabetes mellitus in the dog and the cat*. Clin Tech Small Anim Pract, **17**, 65-69.
3. **Boyer RF** (1986): *Modern Experimental Biochemistry*. Addison-Wesley Publishing Company, California, USA.
4. **Dave GS, Kalia K** (2007): *Hyperglycemia induced oxidative stress in type-1 and type-2 diabetic patients with and without nephropathy*. Cel Mol Biol. **53**, 68-78.
5. **Davison LJ, Podd SL, Ristic JME, Herrtage ME, Parnham ve Catchpole B** (2002): *Evaluation of two point-of-care analysers for measurement of fructosamine or haemoglobin A_{1c} in dogs*. J Small Anim Pract, **43**, 526-532.
6. **Davison LJ, Slater LA, Herrtage ME, Church DB, Judge S, Ristic JME ve Catchpole B** (2003): *Evaluation of a continuous glucose monitoring system in diabetic dogs*. J Small Anim Pract, **44**, 435-442.
7. **Davison LJ, Herrtage ME, Catchpole B** (2005): *Study of 253 dogs in the United Kingdom with diabetes mellitus*. Vet Rec, **156**, 467-471.
8. **Denise AE, Richard WN, Edward CF, Larry AN** (1997): *Glycosylated haemoglobin concentrations in the blood of healthy dogs and dogs with naturally developing diabetes mellitus, pancreatic β -cell neoplasia, hyperadrenocorticism and anemia*. JAVMA, **211**, 723-727.

9. **Düzgüneş O ,Kesici T, Gürbüz F** (1983): *İstatistik Metotları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fak Yay No:861, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
10. **Flückiger R, Winterhalter KH** (1976): *In vitro synthesis of hemoglobin A_{1c}*. FEBS Lett, 71, 356-360.
11. **Gleisner A, Martinez L, Pino R, Rojas IG, Martinez A, Azenjo S and Rudolph MI** (2006) : *Oxidative stress markers in plasma and urine of prepubertal patients with type 1 diabetes mellitus*. J Pediatr Endocrinol Metab, **19**, 995 -1000.
12. **Hooghuis H, Rodriguaz M, Castalo M** (1994): *Ion-exchange microchromatography and thiobarbituric acid colorimetry for the measurement of canine glycated hemoglobins*. Vet Clin Pathol, **23**, 110-115.
13. **Hsu WT, Tsai LY, Lin SK,Hsiao JK, Chen BH** (2006): *Effects of diabetes duration and glycemic control on free radicals in children with type 1 diabetes mellitus*. Ann Clin Lab Sci, **36**, 174–178.
14. **Kaneto H, Katekami N, Kawamori D, Miyatsuka T, Sakamoto K, Matsuoka TA, Matsuhisa M.** (2007): *Involvement of oxidative stress in the pathogenesis of diabetes*. Antioxid Redox Signal **9**, 355 – 366.
15. **Loste A, Marca MC** (2001): *Fructosamine and glycated haemoglobin in the assesment of glycaemic control in dogs*. Vet Res, **32**, 55-62.
16. **Mahaffey EA, Cornelius LM** (1982): *Glycosylated haemoglobin in diabetic and nondiabetic dogs*. J Am Vet Med Assoc, **180**, 635-637.
17. **Maiese K, Morhan S D and Chong Z Z** (2007): *Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus*. Curr Neurovasc Res **4**, 63-71.
18. **Marca MC, Lose A** (2000): *Glycosylated haemoglobin assay of canine blood samples*. J Small Anim Pract, **41**, 189-192.
19. **Marca, MC, Lose A, Ramos JJ** (2000): *Effect of acute hyperglycemia on the serum fructose and blood glycated haemoglobin concentrations in samples*. Vet Res, **24**, 11-16.
20. **Marca MC, Lose A, Unzueta A, Perez M** (1999): *Blood glycated haemoglobin evaluation in sick dogs*. Can J Vet Res, **64**, 141-144.
21. **Shrilatha B and Muralidhara DR** (2007) : *Occurrence of oxidative impairments, response of antioxidant defences and associated biochemical perturbations in male reproductive milieu in the Streptozotocin-diabetic rat*. Int J Androl. Epub Jun 15.
22. **Yeğin A, Tomris Ö** (1996): *Nonenzimatik glikasyon reaksiyonları*. Biyokimya Dergisi, **21**,59-72.
23. **Winterhalter KH** (1981): *Determination of Glycosylated Hemoglobin*. 732-739. In: Methods in Enzymology, Antonini E (Ed), Academic Press, New York.

Geliş tarihi: 14.05.2007 / Kabul tarihi: 17.10.2007

Yazışma adresi

Neslihan Taşçene
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
06110 Dışkapı/Ankara