T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LİPOPOLİSAKKARİD (*E.COLİ*) İLE DENEYSEL OLARAK ENDOTOKSEMİ OLUŞTURULAN BUZAĞILARDA AKUT FAZ PROTEİNLERİN KLİNİK TEŞHİSTEKİ ÖNEMİ

Alparslan COŞKUN

DOKTORA TEZİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. İsmail ŞEN

KONYA-2008

ÖNSÖZ

Dünyada olduğu gibi ülkemiz sığır yetiştiricileri için en önemli gelir kaynağı buzağılardır. Maalesef ülkemizde enfeksiyöz buzağı hastalıkları ile oldukça sık karşılaşıyoruz. Özellikle bilinçsiz yetiştiricilik, yetersiz bakım ve besleme bu hastalıkların insidansını ve mortalite oranını artırmaktadır. Buzağılarda gelişen sepsis/endotoksemilerde tedavi giderleri, insan gücü ve ölüm oranın yüksek olması hayvancılık sektöründe ciddi ekonomik kayba neden olmaktadır. Buzağıların sağlıklı bir şekilde gelişmeleri hem yetiştiriciye hem de ülke ekonomisine katkı sağlayacaktır. Sürü sağlığı kontrollerinde, enfeksiyonların erken teşhisinde, tedavisinde ve prognozunda son zamanlarda akut faz proteinler yoğun olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Akut faz protein analizlerinin uygulama alanları sadece hayvanlardaki hastalıkların tanısında, uygulanan tedavinin etkinliğinin belirlenmesinde ve prognozunda kullanımı ile sınırlı kalmayıp ayrıca, Akut faz proteinlerin çiftlik hayvanlarının optimal büyümeleri ve yaşam standartlarının izlenmesinde de kullanılabileceği düşünülmektedir. Sunulan bu araştırmada Lipopolisakkarid ile endotoksemi oluşturulan buzağılarda; bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler, Haptoglobin, Serum Amiloid A ve Fibrinojen konsantrasyonları belirlenmiş ve bu parametrelerin endotokseminin teşhis ve prognozundaki önemi ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada yardımlarını ve ilgilerini esirgemeyen S.Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD'daki tüm hocalarıma, katkıları ve yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji ABD öğretim üyesi Emrah SUR ve araştırma görevlisi Tuğba TELATAR'a, Farmakoloji ve Toksikoloji ABD araştırma görevlisi Kamil ÜNEY'e ve çalışmalar sırasındaki tüm desteği için eşime şükranlarımı sunarım.

Sunulan bu araştırma S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (**Proje no:06102002**) ve Tubitak (**Proje no:106O254**) tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ ……..…….. 1
1.1. Sepsis ……...……..….. 3
1.2. Endotoksemi ……..……..……. 6
1.3. Sepsis/Endotokseminin Fizyopatolojisi ……..…….. 9
1.4. Sitokinler ……..……..…… 10
1.4.1 Tümör nekrozis faktör-alfa …..…..……...…… 11
1.5. Dissemine İntravasküler Koagulasyon ……..…… 12
1.6. İmmun Sistem Hücreleri ……..…..…… 14
1.7. Akut Faz Proteinler ……..…….. 16
1.7.1. Akut faz proteinlerin fizyolojisi ……..……..... 16
1.7.2. Negatif akut faz proteinler ……..…….. 19
1.7.2.1. Albumin ……..…….. 19
1.7.3. Pozitif akut faz proteinler ……..……..…… 20
1.7.3.1. Haptoglobin ……...……..…… 21
1.7.3.2. Serum amyloid A ..……..…… 23
1.7.3.3. Fibrinojen ...……..... 25
1.7.3.4. Alfa 1-asid glikoprotein …..……... 26
1.7.3.5. C-reaktif protein ……... 27
1.7.3.6. Seruloplazmin …….. 28
2. GEREÇ VE YÖNTEM ……... 29
2.1. Gereç…. ……..…… 29
2.1.1. Hayvan materyali ……..…….. 29
2.2. Yöntem.……..……... 29
2.2.1. Endotokseminin oluşturulması.……..…… 29
2.2.2. Klinik muayene ……..…….. 29
2.2.3. Kan örneklerinin alınması ……..…….. 31
2.2.4. Hematolojik muayeneler ……..……... 31
2.2.4.1. Hemogram …… 32
2.2.4.2. Kan gazları ve elektrolitlerin ölçümü …..…… 32
2.2.5. Akut faz proteinlerin ölçümü ……..……..…….. 32
2.2.6. Formül lökosit ve T-B lenfosit oranlarının belirlenmesi ..……..… 33
2.2.7. Koagulasyon profili ……..……..…… 33

2.2.8. Biyokimyasal parametreler …… 33
2.2.9. IgG ……..…….…… 34
2.2.10. İstatiksel analiz …… 34
3. BULGULAR……. 35
3.1. Klinik Bulgular ……. 35
3.2. Laboratuar Bulguları ……. 41
3.2.1. Haptoglobin …… 41
3.2.2. Serum amyloid A …… 41
3.2.3. Hemogram ve kan gazları ……... 45
3.2.4. Biyokimyasal parametreler ……..…… 48
3..2.5. Koagulasyon parametreleri …… 52
4. TARTIŞMA ……. 57
4.1. Klinik ……. 57
4.2. Akut Faz Proteinler …… 59
4.3. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler …….. 62
4.4. Koagulasyon Profili ……..…….. 64
5. SONUÇ VE ÖNERİLER …… 66
6. ÖZET ……...……... 67
7. SUMMARY ……..…… 68
8. KAYNAKLAR ……...…….. 69
9. ÖZGEÇMIŞ …… 77

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1. İnsanlarda sepsisin tanı kriterleri 5

Tablo 1.2. Hipoalbumineminin nedenleri 19

Tablo 1.3. Canlı türlerine göre pozitif akut faz proteinler 20

Tablo 3.1. Hp, SAA, Biyokimyasal ve koagulayon değerlerinin LPS infüzyonunu takiben 0. ve 144. saatler arasındaki değerleri (Ortalama ±SE) 54

Tablo 3.2. Kangazı değerleri, vücut ısısı, KTDZ, kalp vurum sayısı ve solunum sayısının LPS infüzyonunu takiben 0. ve 120. saatler arasındaki değerleri (Ortalama±SE) 55

Tablo 3.3. Hemogram değerlerinin LPS infüzyonunu takiben 0. ve 120. saatler arasındaki ortalama değerleri (Ortalama ±SE) 56

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 3.1. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama vücut ısısının saatlere göre değişim grafiği ……..... 35

Grafik 3.2. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel vücut ısılarının saatlere göre değişim grafiği……... 36

Grafik 3.3. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama kalp vurum sayısının saatlere göre değişim grafiği…… 36

Grafik 3.4. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama solunum sayısının saatlere göre değişim grafiği ..…… 37

Grafik 3.5. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama KTDZ süresinin saatlere göre değişim grafiği ……..…….....……. 37

Grafik 3.6. Ortalama solunum tipi, mukozal görünüm, iştah durumu, bilinç durumu, genel görünüş-duruş ve dışkı niteliğinin saatlere göre değişim grafiği.... 39

Grafik 3.7. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama Haptoglobin ve Serum Amyloid A'nın saatlere göre değişim grafiği (log_{10}, Ortalama ±SE) ...….. 41

Grafik 3.8. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel Haptoglobin değerlerinin saatlere göre değişim grafiği …..……..... 42

Grafik 3.9. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel SAA değerlerinin saatlere göre değişim grafiği ……..... 42

Grafik 3.10. LPS infüzyonunu takiben 1 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 43

Grafik 3.11. LPS infüzyonunu takiben 2 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 43

Grafik 3.12. LPS infüzyonunu takiben 3 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 43

Grafik 3.13. LPS infüzyonunu takiben 4 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 43

Grafik 3.14. LPS infüzyonunu takiben 5 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 44

Grafik 3.15. LPS infüzyonunu takiben 6 numaralı buzağının Hp ve SAA

değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 44
Grafik 3.16. LPS infüzyonunu takiben 7 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 44
Grafik 3.17. LPS infüzyonunu takiben 8 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 44
Grafik 3.18. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama kan Ph değerinin saatlere göre değişim grafiği ……. 45
Grafik 3.19. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama $PvCO_2$ değerinin saatlere göre değişim grafiği ..…… 45
Grafik 3.20. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama PvO_2 değerinin saatler arası değişim grafiği ……..…….. 46
Grafik 3.21. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama BE değerinin saatlere göre değişim grafiği ……. 46
Grafik 3.22. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama total lökosit, lenfosit, T lenfosit, B lenfosit, nötrofil, bant nötrofil, toksik nörofil sayılarının saatlere göre değişim grafiği ...……... 47
Grafik 3.23. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama glukoz konsatrasyonun saatlere göre değişim grafiği …… 48
Grafik 3.24. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama GGT konsatrasyonunun saatlere göre değişim grafiği …… 48
Grafik 3.25. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama AST konsantrasyonun saatlere göre değişim grafiği …..…… 49
Grafik 3.26. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama ALP konsantrasyonun saatlere göre değişim grafiği ..…… 49
Grafik 3.27. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama total bilirubin konsantrasyonun saatlere göre değişim grafiği …….. 50
Grafik 3.28. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama total protein, albumin, globulin değerlerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 50
Grafik 3.29. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama BUN değerinin saatlere göre değişim grafiği ……. 50

Grafik 3.30. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama kreatinin değerinin saatlere göre değişim grafiği ……. 51

Grafik 3.31. Araştırma öncesi buzağıların bireysel IgG seviyeleri …… 51

Grafik 3.32. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama fibrinojenin saatlere göre değişim grafiği ……... 52

Grafik 3.33. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama APTT değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 52

Grafik 3.34. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama PT değerinin saatlere göre değişim grafiği …….. 53

Grafik 3. 35. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama PLT sayısının saatlere göre değişim grafiği ..……... 53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Endotoksinin etki mekanizması …….. 10

Şekil 1.2. Dissemine intravaskular koagulasyonun patogenezi ……... 13

Şekil 1.3 APP'lerin üretimi ve düzenlenmesi ……. 18

RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. Endotoksemi oluşturulan buzağıların genel görünümleri …….. 40

Resim 3.1. ANAE negatif lenfositin görünümü (B lenfosit) …….. 47

Resim 3.2. ANAE pozitif lenfositin görünümü (T lenfosit) …… 47

KISALTMALAR

AGP	Alfa 1-asid glikoprotein
ALP	Alkalen fosfotaz
ALT	Alanin aminotransferaz
ANAE	Alfa naftil asetat esteraz
APP	Akut faz protein
APTT	Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
AST	Aspartat aminotransferaz
BE	Baz açığı
CRP	C-reaktif protein
Cp	Seruloplasmin
DIC	Dissemine intravaskular koagulasyon
GGT	Gama glutamil transferaz
HGB	Hemoglobin
Hp	Haptoglobin
Hct	Hematokrit
IL	İnterleukin
LDH	Laktat dehidrogenaz
LBP	Lipopolisakkarid bağlayıcı protein
LPS	Lipopolisakkarid
MCH	Ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCHC	Bir eritrositteki ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
RBC	Eritrosit sayısı
P_vCO_2	Parsiyal venöz karbondioksit basıncı
PLT	Trombosit
P_vO_2	Parsiyal venöz oksijen basıncı
PT	Protrombin zamanı
SAA	Serum amyloid A
TNF-α	Tümör nekrozis faktör-alfa
WBC	Total lökosit sayısı

1. GİRİŞ

Proteinler organizmada pek çok fizyolojik olayda rol oynayan maddelerdir. Dokuların temel yapı taşlarını oluşturmakla birlikte enzim ve hormon gibi vücutta çok sayıdaki kimyasal reaksiyonları düzenler. Proteinlerin sentezlenmesi genetik düzeyde kontrol edilmektedir. Bunun için de bireyler ve türler arasında proteinler bakımından farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Kanda bulunan bazı proteinler, çeşitli yangı durumlarında hızla yükselir veya düşer. Özellikle bu hızlı artma /azalma akut dönemde daha belirgindir. Akut dönemde bu belirgin değişikliği gösteren proteinlere akut faz protein (APP) adı verilir. Bu proteinler temel olarak karaciğerden sentezlenir ve çoğu glikoprotein yapısındadır. Akut faz proteinlerin salgılanması proinflamatör sitokinler tarafından düzenlenir.

Akut faz proteinler; enfeksiyon, yangı, şirurjikal travma veya strese maruz kalan hayvanlarda antikordan bağımsız olarak mikrobiyal büyümeyi sınırlandırmada ve homeostazisin restorasyonuna katkı sağlarlar. Son yirmi yılda, klinik ve deneysel amaçlar için hem çiftlik hem de küçük hayvan hekimliğinde APP'lerle ilgili çok önemli gelişmeler olmuştur. Araştırıcılar APP'lerin miktarlarını belirlemede çeşitli yöntemler geliştirmişlerdir. Bu sayede APP'lerin türlerle ilgili farklılıklarını tanımlamışlardır. APP'ler enfeksiyon, yangı veya travmaya cevapta proinflamatör sitokinlerin stimülasyonuyla çeşitli hastalık durumlarına tepki olarak üretilmektedir. APP'lerin cevabının genişliği ve bir hastalık için spesifik olmaması bir dezavantaj olarak görülebilirken diğer uygun testlerle beraber değerlendirildiğinde klinisyenler için önemli diagnostik parametre olacağı ifade edilmektedir. Bu yüzden APP'ler 'Kimyasal Termometre' olarak adlandırılmıştır. Gerçekten de memelilerde beden ısısının ölçümünden daha stabil olduğu ve APP'in cevabının hastalığın prognozu veya iyileşmesi ile yakın ilişkili olduğu vurgulanmaktadır. İnsan hekimliğinde ve artan oranda da veteriner hekimliğinde akut faz proteinlerin seviyelerinin belirlenmesi enfeksiyon ve yangısal lezyonlarla ilgili önemli klinik bilgiler sağlar. Ayrıca bu proteinlerin miktarları çiftlik hayvanlarının genel sağlık durumlarının ve halk sağlığı için potansiyel riskli kasaplık hayvanların değerlendirilmesinde de kullanılabilir.

Neonatal buzağılarda ölümlerin en önemli sebepleri diyare, pnömoni ve septisemi olup, bunlar içersinde septisemi daha yaygın olarak gözlenmektedir. Bu hastalıklarla ilgili ölümler bakteriyemi, viremi ve endotokseminin bir sonucu olarak

ortaya çıkmaktadır. Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlar 1 ila 60 günlük buzağılarda yaygın olarak görülmektedir. Gram-negatif bakterilerden *Escherichia coli (E.coli)* dört günlükten büyük buzağılarda septisemi veya barsak enfeksiyonu meydana getirerek ishale neden olmakla birlikte bazen iki günlükten küçük buzağılarda bile önemli problemlere neden olabilmektedir. Septisemik kolibasillozisin akut formlarında şiddetli depresyon, kollaps ve diyare gözlenir. Bazen enfeksiyonun lokalizasyon bölgesine bağlı olarak eklemlerde ve meninkslerde yangısal reaksiyonlar da ortaya çıkabilir.

Dünyada olduğu gibi ülkemiz sığır yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biri buzağı ölümleridir. *E. coli, Salmonella* ve *Pasteurella* gibi septisemi/endotoksemiye neden olan bakteriyel enfeksiyonlar buzağı ölümlerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Beşeri hekimlikte olduğu gibi veteriner hekimliğinde de endotoksemi prognozu yönüyle en kompleks hastalıklar arasında yer alır. Son zamanlarda çeşitli kan proteinlerinin ölçümleri ile sürü sağlığı kontrolü, bazı hastalıkların teşhiş ve prognozunun belirlenmesi gibi konularda ciddi mesafeler alınmıştır. Yangı, doku hasarı veya travma durumlarında hızlı reaksiyon gösteren Akut Faz Proteinler, enfeksiyonun belirteci olarak kullanılmaktadır. Akut Faz Proteinleri hastalıkların teşhisi, prognozu ve tedavi seçiminde kullanılabileceği gibi, çiftlik hayvanlarında optimal büyüme, yaşam standartlarının izlenmesi ve sağlık durumlarının belirlenmesinde de faydalı olabileceği belirtilmektedir.

Sunulan bu araştırmada; Lipopolisakkarid (LPS) ile endotoksemi oluşturulan buzağılarda; klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile Haptoglobin (Hp), Serum Amiloid A (SAA) ve Fibrinojen konsantrasyonları belirlenmek ve bu parametrelerin endotokseminin teşhis ve prognozundaki önemi ortaya koymak amaçlanmıştır.

1.1. Sepsis

Sepsis ve sepsisle ilişkili durumlar için çeşitli tanımlamalar yapılmıştır. Bu tanımlamalar North American and European Intensive Care Societies tarafından gözden geçirilerek düzenlenmiştir (Bone ve ark 1992, Levy ve ark 2003, Tsiotou ve ark 2005, Nguyen 2006). Bu tanımlamaya göre;

Sepsis: İnfeksiyon ve buna bağlı gelişen yangısal cevapla birlikte aşağıdaki bulgulardan iki veya daha fazlasının bulunmasıdır.

- Vücut ısısı > 38^{o}C veya <36^{o}C
- Kalp hızı > 90 vuru/dakika
- Solunum hızı > 20/dakika veya $PaCO_2$ < 32 mmHg.
- Lökosit > 12.000/mm^3 veya < 4.000/mm^3 > %10 band formasyonu

Bakteriyemi: Kanda canlı bakterinin varlığını tanımlar. Ancak şiddetli sepsis ve septik şok vakalarının bile %50'sinde bakteri tespit edilebilmektedir.

Endotoksemi: Kan dolaşımında endotoksinin varlığını tanımlar. Sepsis ve septik şoklu hastalarda görülmekle beraber, deneysel olarak da LPS infüzyonlarında oluşabilmektedir (Bone ve ark 1989).

Enfeksiyon: Patojenik veya potansiyel olarak patojen olma olasılığı olan mikroorganizmaların normal olarak steril vücut boşluklarında, dokularda veya vücut sıvılarında bulunmasıyla karakteristik patolojik bir gelişmedir

Sistemik yangısal yanıt sendromu (SIRS): Çeşitli ciddi klinik durumlara karşı oluşan yaygın yangısal yanıttır. Sepsiste belirtilen bulgulardan en az iki tanesinin varlığı SIRS'ın varlığını gösterir.

Şiddetli sepsis: Sepsise bağlı olarak bir veya daha fazla organ bozukluğunu ifade eder. Akut akciğer hasarı, koagulasyon anormaliteleri, trombositopeni, mental durum değişikliği, böbrek, karaciğer ve kalp hasarı veya laktik asidozis ve hipoperfüzyon gibi organ bozukluklarını kapsar.

Septik şok: Tüm müdahalelere rağmen devam eden inatçı bir hipotansiyon (sistolik kan basıncının 90 mmHg'dan, ortalama arteriyal basıncın 65 mmHg'dan az veya 20–40 ml/kg bir kristalloid sıvı uygulamasına karşı verilen yanıtın 40

mmHg'den az olması) ile diğer organ ve sistem yetmezlikleri yanında kardiyovasküler sistem bozukluklarının da görüldüğü durumlar şiddetli sepsis şeklinde tanımlanır.

Septisemi, çeşitli sistem veya organda bulunan bakteriyel kaynaklı sepsis veya septik şokun eşlik ettiği sistemik sirkülasyona patojenik bakterilerin akut invasyonudur. Septisemi, doğumdan sonraki 24 saat içinde yeterli kolostrum alamayan neonatal dönemdeki hayvanların mortalite ve morbiditesini etkileyen yaygın nedenlerden biridir. Septisemi, sepsis/septik şokun eşlik etmediği bakteriyemiden farklıdır. Bakteriyemide bakteri sadece geçiş periyodu için kan dolaşımında bulunur ve klinik belirtiler oluşturmaz. Septisemide patojenler hastalığın tüm seyri boyunca dolaşımda bulunabilir ve hastalık sürecinin başlangıcından direk sorumludur (Facteau ve ark 1997a, Lofsted ve ark 1999, Constable 2004, Constable 2007).

Buzağılarda bakteriyemi ve septisemi sıklıkla *E. coli* ve *Salmonella spp*. ile ilgilidir. *E. coli* buzağılardan sıklıkla identifiye edilirken gram pozitif infeksiyonlar septisemik buzağılarda % 10, polimikrobiyal infeksiyonlarda % 28 oranında bulunmaktadır. İshalli veya ishal gözlenmeyen ancak şiddetli rahatsızlığı bulunan buzağıların % 30'u bakteriyemiktir ve bakteriyemi riski, buzağıların kolostral immunglobulinlerin yetersiz transferi ile artar. Düşük düzeydeki serum protein ve immunglobulinler, kolostral immunglobulinlerin yetersiz transferi ile ilgilidir. Bu da yeni doğan çiftlik hayvanlarında çoğunlukla gram negatif bakterilerin neden olduğu septiseminin görülmesiyle sonuçlanabilir (Aldridge ve ark 1993, Constable 2007).

Genel olarak septisemide yüksek vücut sısı, kardiyovasküler fonksiyon bozukluğu, şok, submukozal ve subepidermal hemoraji gözlenir. Spesifik belirtiler infeksiyonun lokalizasyonuna göre değişebilir. Neonatal septisemi çiftlik hayvanlarında doğumdan sonraki birkaç saat içinde başlayarak doğum sonrasındaki ilk günler boyunca yaygın olarak gözlenir. Neonatal septisemide gözlenen bulgular;

- Depresyon
- Yerde yatma
- Emme refleksi kaybı veya yokluğu
- Dehidrasyon

- Yüksek ateş
- İshal
- Mukoz membranlarda konjesyon
- Güçsüzlük, zayıflık
- Hızlı ölüm (Constable 2007)

Otuz günlükten daha küçük septisemili buzağılarda klinik bulgularda soğuk ekstremiteler, dehidrasyon, zayıf nabız, uzamış kapiller tekrar dolum zamanı, halsizlik, zayıflık ve yerde yatma bulguları gözlenebilir. Oftalmitis, nörolojik anormallikler, omfalofilebitis ve poliartritis gibi belirgin lokalize bulgular da açığa çıkar (Aldridge ve ark 1993).

Sepsisin tanısı oldukça zor olup; genel olarak hipertermi/hipotermi, taşikardi, taşipne, lökopeni/lökositoz bulguları görülebilmektedir. İnsanlarda bu bulguların yanı sıra Tablo 1.1'de belirtilen semptomların da görülebileceği ancak bu kriterlerin dahi tam spesifik olmayacağı belirtilmektedir (Vincent ve Abraham 2006).

Tablo 1.1- İnsanlarda sepsisin tanı kriterleri

Genel bulgular
Hipertermi >38,3 °C, Hipotermi <36°C
Taşikardi, Mental durum değişikliği
Hiperglisemi
Yangısal bulgular
Lökositozis veya lökopeni, C-reaktif proteinde artış, Prokalsitoninde artış
Doku perfüzyon bulguları
Hiperlaktemi, Kapiller tekrar dolum zamanı ve deri rengi bozukluğu
Organ bozukluğu bulguları
Hipoksi, Akut oligüri, Koagulasyon bozuklukları, İleus, Hiperbilirubinemi, Trombositopeni

1.2. Endotoksemi

Endotoksemi kanda endotoksinin varlığını tanımlar. Klinik olarak bu terim kullanıldığı zaman endotoksemiye ait klinik belirtilerin de var olması gerekmektedir (Mackay 1996). Endotoksin gram negatif bakterilerin hücre duvarının bir parçasını oluşturur ve canlı dokuya girdikten sonra akut bir yangı başlatılmasından sorumludur (Lohuis ve 1988a). Gram negatif bakteri hücre duvarı; içte peptidoglikan tabaka, dışta lipopolisakkaridler, proteinler ve fosfolipitlerden oluşur. Lipopolisakkarid tabakada bulunan endotoksin molekülü, hücre membranında kaldığı sürece inaktiftir. Hücrenin hızlı büyümesi veya hücre yıkımı sırasında açığa çıkan endotoksin sepsis/endotoksemide olaylar dizisini başlatan anahtar moleküldür (Fışgın 2004). Endotoksinler, koliform mastitis, neonatal koliform septisemi, pasteurellozis ve salmonellozis gibi yaygın gözlenen gram negatif enfeksiyonların gelişimine katkıda bulunurlar. Ayrıca ruminal asidozis, laminitis ve abomasum deplasmanı gibi enfeksiyon kaynaklı olmayan hastalıklarla da bağlantısı vardır (Jacopsen ve ark 2005a).

Septisemide bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonun morbidite ve mortalitesi üzerinde bakterilerin (özellikle gram negatif) membranlarındaki lipopolisakkarid yapısında olan endotoksinin önemli rolü olduğu bildirilmektedir (Levi ve ark 1997, Hardaway 2000, Levi ve ark 2000, Çöl ve Durgun 2004, Constable 2007). Endotoksinler, ısıya dayanıklı olan ve lipopolisakkarid komplekslerinin yapısında bulunan organik moleküller olup enterik basiller başta olmak üzere *Pasteurella spp.* ve *Brusella spp.* gibi diğer gram negatif basillerin de hücre duvarlarında bulunur. Sepsis sonucu bakterinin parçalanması ile serbest kalabilirler ve endotoksemiye neden olurlar. Pirojenik ve kapiller permeabiliteyi artırıcı etkiye sahip olup; bu etkilerini orjin aldıkları bakteri türünden bağımsız olarak ve aynı mekanizma ile oluştururlar (Tizard 1992).

Hücre duvarının endotoksin özelliğini göstermesinde etkili bölümü lipopolisakkariddir. LPS, oligosakkarit ve lipit A kısımlarından oluşur. Oligosakkaritler ise merkez polisakkaritleri ve ‘‘O’’ spesifik polisakkaritlerinden oluşmuştur. Bu yapıya sahip suşlar ‘‘S’’ tipidir ve patojenik olarak kabul edilirler. ‘‘O’’ spesifik polisakkaridi bulunmayanlar ise ‘‘R’’ tiplidir ve apatojenik olarak kabul edilirler (Diker 2005).

Deneysel araştırmalarda hayvanlarda sepsis/endotoksemiyi oluşturmak için LPS uygulamalarının yapılabileceği belirtilmektedir. LPS uygulanan buzağılarda gelişen hemodinamik, solunum, metabolik ve pirojenik değişimlerin, doğal olarak ortaya çıkan sepsisli buzağıların semptomlarına benzediği belirtilmektedir (Templeton ve ark 1988, Biniek ve ark 1998). LPS pek çok araştırmacı tarafından tavşan (Yazar ve ark 2004a, Yazar ve ark 2004b, Turgut ve ark 2006, Elmas ve ark 2006a, Elmas ve ark 2006b, Elmas ve ark 2007), rat (Liu 1996, Engin ve ark 2003, Yaşar ve ark 2007, Liu ve ark 2008), fare (Inoue 2000, Yazar ve ark 2007), köpek (Declue ve ark 2008), keçi (Ismail 2006), at (Jacopsen ve ark 2005b, Danek 2006), bufalo (Dardi ve ark 2005), sığır (Templeton ve ark 1988, Adams ve ark 1990, Semrad 1993a, Semrad 1993b, Gerros ve ark. 1995, Biniek ve ark 1998, Jacopsen ve ark 2005a) gibi hayvanlarda deneysel endotoksemi oluşturmak için kullanılmıştır. Lipopolisakkaridler herhangi bir hastalığa sebep olmaksızın gastrointestinal kanalda bulunabilirken küçük bir miktarı bile canlının dolaşım sistemine girerse, sistemik yangısal semptomlarla karakterize ciddi klinik cevapları başlatırlar. Sığırlarda görülen pek çok hastalıkta özellikle koliform mastitis, neonatal koliform septisemi, pasteurellozis ve salmonellozis gibi gram negatif bakteriyel enfeksiyonlarda LPS'den kaynaklanan yangısal semptomlar gözlenir. Sığırların çeşitli laboratuar hayvan türlerine göre LPS'nin etkilerine karşı daha duyarlı olduğu ve düşük dozlardaki LPS'nin bile ciddi etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir (Jacopsen ve ark 2005a). Gram negatif bakterilerden kaynaklanan sistemik enfeksiyonlar endotoksemik şok veya ölüme neden olabilmektedir. Buzağılara parenteral LPS uygulanmasıyla da gram negatif septisemiye benzer klinik semptomların oluşturulduğu bildirilmiştir. Laboratuar hayvanlarına endotoksin veya lipopolisakkaridin intravenöz uygulanmasıyla da endotoksik şoka veya ölüme neden olunabileceği belirtilmiştir (Adams ve ark 1990, Gerros ve ark 1995). Jacopsen ve ark (2005a) sığırlara üç farklı dozda (10, 100 ve 1000 ng/kg) LPS uygulamışlar ve düşük doz LPS'nin bile sistemik yangısal cevap oluşturduğunu bildirmişlerdir. LPS'in uygulanmasıyla ateş, sistemik hipotansiyon, bradikardi, disseminant intravasküler koagulasyon (DIC), doku nekrozu ve pek çok yangısal mediatörün üretilmesi gibi fizyolojik akut faz cevaplar oluşmaktadır. Bu yangısal mediatörler tümör nekrozis faktör (TNF), interleukin-I, (IL-1), IL-6, α-interferon, ve eikosanoidlerdir (Adams ve ark 1990).

Endotoksemi sürecinde çeşitli anormalikler oluşur;

- Kardiopulmoner fonksiyonda belirgin değişiklikler
- Lökosit anormallikleri (nötropeni, lenfopeni) ve trombositopeni
- Vaskuler permeabilite artışı
- Kalp ve böbrek yetmezliğine yol açan organ kan akımında ve metabolizmada azalma
- Gastrointestinal motilitede azalma
- Şokla sonuçlanan periferal perfüzyonun azalması
- Yoğun ve kompleks bir tedavi gerektirir
- Ölüm oranı yüksektir

Akut tokseminin klinik bulguları çoğu nonspesifik tokseminin bulguları ile benzeşir. Depresyon, anoreksi ve kas zayıflığı akut endototoksemide yaygın olarak gözlenir. Buzağılar istekli emmez veya emme refleksine sahip dehildirler. Yetersiz bir dışkı veya düşük hacimli ishal oluşabilir. Kalp vurum sayısı artar, kalp sesi şiddeti ise başlangıçta artarken sonrasında, toksemi tablosu kötüleştikçe azalır. Nabız zayıf-hızlı fakat düzenlidir. Vücut ısısı endotokseminin erken döneminde yüksek, daha sonra normal veya normalin altında bir seyir gösterebilir. Neonatal buzağılarda, taylarda ve kuzularda yüksek ateş, kolostrum yoksunluğu ve termoregülasyonun yetersizliği nedeniyle oluşmayabilir (Mackay 1996, Constable 2007).

Endotoksin dolaşıma girdiğinde hızla kardiyovaskuler kollapsın oluşmasına ve toksik veya septik şokun gelişmesine neden olur. Belirgin klinik bulguları (Constable 2007);

- Şiddetli vasodilatasyon (düşük kan basıncı sonucu)
- Mukozada solgunluk
- Hipotermi
- Taşikardi
- Zayıf nabız
- Kas zayıflığı

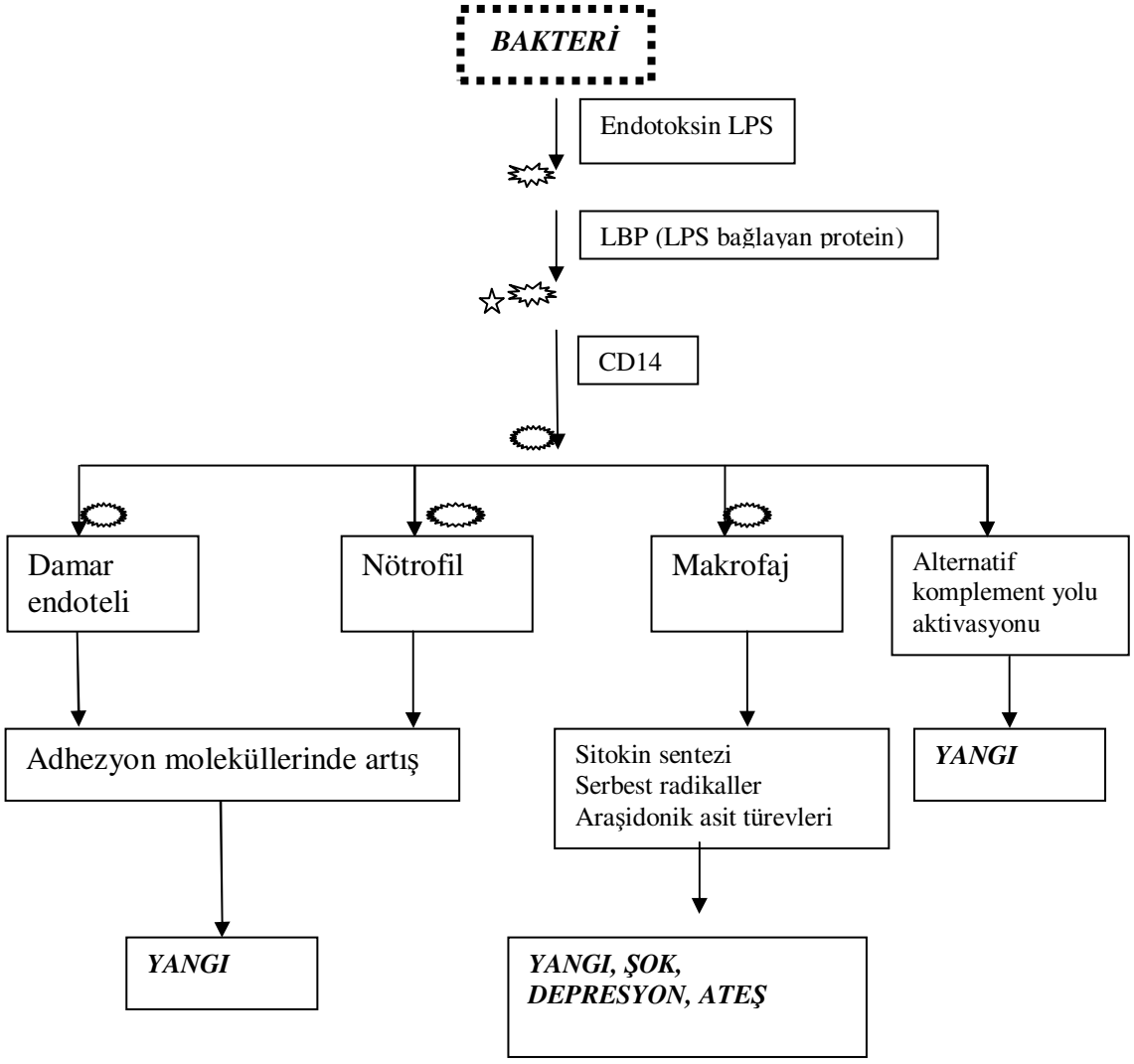
Şiddetli endotokseminin klinik semptomları (Lohuis ve ark 1988a, Gerros ve ark 1995, Constable 2007);

- Depresyon
- Hipotermiyi takip eden hipertermi
- Kalp atışında azalmayı takip eden taşikardi
- Sistemik kan basıncında azalma
- Soğuk deri ve ekstremite
- Kapiller tekrar dolum zamanında uzama
- Kas zayıflığı ve yerde yatma

1.3. Sepsis/Endotokseminin Fizyopatolojisi

Sepsis/endotokseminin fizyopatolojisi oldukça karmaşıktır. Mikroorganizmaların hücre yapıları ve toksinleri dolaşımdaki mononükleer fagositleri, endotel hücrelerini ve diğer farklı birçok hücreyi uyararak güçlü mediatörlerin salınmasına neden olurlar. Bunların en önemlileri TNF-α, IL-1, IL-2, IL-6'dır (Bone 1991, Worthley 2000, Fışgın 2004). Endotoksinlerin etkileri hücresel ön ara ürünler ve onların doğal karşıtlarının salgılanması ve dengelenmesi ile ortaya çıkar. Bu etkinin şiddeti endotoksinin yapısı ve konağın genetik yapısı ile yakından ilişkilidir. LPS'lerin farklı yapıda olmaları onların komplemanı uyarmaları, sitokin oluşturmaları, toksisiteleri ve antibiyotik direnci biyolojik özelliklerinin de farklı olması sonucunu doğurur. LPS'nin hedef hücre tarafından nasıl algılandığının mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalar CD14'ün bu aşamada önemli rol aldığını ortaya koymuştur. LPS, ilk basamak olarak LPS-bağlayan protein (LBP) tarafından tutularak LPS-LBP bileşimi oluşturulur (Aygün 2002, Yeğenağa 2006). Bu bileşim poliform nükleer nötrofil, makrofaj, mesangiyal hücreler gibi hücrelerin membranlarında bulunan glikozil fosfatidilinozitole takılı CD14 reseptör ile reaksiyona girer. LPS, CD14 molekülleri sayesinde yangı hücrelerine tutunur ve böylece çeşitli sitokinleri ve kemokinleri (ön aracı ürünler) üretime geçirir. Septik şokta görülen lezyonlara LPS'nin uyarımı sonucu makrofajlardan salgılanan üç tip yangı mediatörü neden olur. Yangı sitokinleri (IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α), reaktif oksijen ve nitrojen metabolitleri ve araşidonik asit metabolitleridir (prostaglandinler, leukotrienler) (Diker 2005). Bu ara ürünler

dolaşımda hemodinamik dengesizliğe, hücre-organ işlev bozukluğuna neden olarak apoptozise, nekroz ile de hücre ölümüne neden olurlar (Yeğenağa 2006). Endotoksinlerin etki mekanizması Şekil 1.1'de gösterilmiştir (Diker 2005).



Şekil 1.1. Endotoksinin etki mekanizması

1.4. Sitokinler

Sitokinler; makrofajların aktive edilmesinden, yangılı dokuda fibroblastların gelişmesinden, kemik iliğindeki lökosit prokürsörlerinin aktivasyonundan, kas yıkımlanmasından ve beden ısısının artışından sorumludur (Miert 1995, Niewold ve ark 2003, Tsiotou 2005).

Sitokinler, sepsis ve septik şokla karakterize yangı cevabının anahtar elementler olup proinflamatuar (TNF-α, IL-1, IL-8) ve antienflamatuar sitokinler olarak bölünebilirler. Bir infeksiyon ya da mikrobiyal toksin gibi yangının tetikleyicileri, TNF-α, IL-1, IL-6 üreticisi olan makrofajları stimüle eder. TNF-α, sepsisin oluşumunun erken dönemlerinde ve patofizyolojisinde önemli sitokinlerden biridir (Tsiotou 2005). Sağlıklı bireylerdeki serum TNF-α seviyesi genellikle tespit edilemeyecek seviyededir. Ancak sepsis ve kritik hastalıkların sürecinde endojen ve ekzojen uyarıcı faktörlerle (bakteri, virüs, tümör, hücre zararı) artar (Worthley 2000).

Sitokinler üç ana gruba ayrılır;

- Çeşitli hücreler için pozitif veya negatif büyüme faktörü olarak rol oynayan sitokinler

(IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-10, IL-11, IL-12 ve granülosit-makrofaj kolonisi stimule eden faktör).

- Proinflamatör özelliğe sahip sitokinler (TNF-α/β, IL-1-α/β, IL-6, IFN-α/γ ve makrofaj inhibitör protein-1).

- Antienflamatör faktör olarak hareket eden sitokinler (IL-1 reseptör antagonisti, soluble IL-1 reseptörleri, TNF-α binding protein ve IL-1 binding protein) (Miert 1995, Niewold ve ark 2003).

Tümör nekrozis faktör -α, IL1- β ve IFN-γ gibi proinflamatör sitokinler; nitrik oksit, lökotrinler, prostaglandinler ve trombositi aktive eden faktör gibi ajanların ve diğer sitokinlerin (IL-6, IL-8) üretilmesi için oldukça önemlidir. İnterferonlar (IFN) özellikle de IFN-γ viral enfeksiyonlarda, TNF-α ve IL-8 ise endotoksine cevapta sentezlenir (Niewold ve ark 2003).

1.4.1. Tümör nekrozis faktör-alfa

Tümör nekrozis faktör, normal hücreler için önemsiz ancak virusla infekte hücreler ve tümör hücreleri üzerine etkili bir sitokindir. TNF'nin varlığı ilk kez kendiliğinden gelişen tümör vakalarında belirlenmiş ve farelerin deneysel subkutan tümörlerinde hemorajik nekroz oluşturduğu için bu ad verilmiştir (Diker 2005). Makrofajlar TNF'nin en önemli kaynağıdır. Bakteriyel ürünler, özellikle LPS, IFN-γ, IL-2 makrofajlardan TNF salınmasına neden olurlar. Tüm çekirdekli hücreler TNF için reseptörlere sahip oldukları için bu sitokinler tarafından etkilenebilirler. IL-2

varlığında TNF, makrofaj, nötrofil, T ve B lenfosit, doğal öldürücü hücre (NK) ve lenfokinle aktive öldürücü (LAK) hücre aktivitesini artırır (Adams ve ark 1990, Diker 2005) .

Tümör hücrelerinin duyarlılığına bağlı olarak TNF, bu hücreleri direkt olarak lize edebilir. Ancak TNF, tümör üzerindeki etkisini daha çok makrofajları, sitoksik T lenfositleri, ve NK hücrelerini aktive ederek gösterir (Diker 2005).

TNF-α sepsisin patogenezinde merkezi rol oynar. Yapılan çalışmalarda TNF, IL-1, ve IL-6'nın plazma düzeylerinin yüksek olması ile mortalite arasında doğru bir orantı olduğu gösterilmiştir (Fışgın 2004). Başoğlu ve ark (2004) sepsisli buzağılarda TNF konsantrasyonunun, buzağıların klinik durumu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

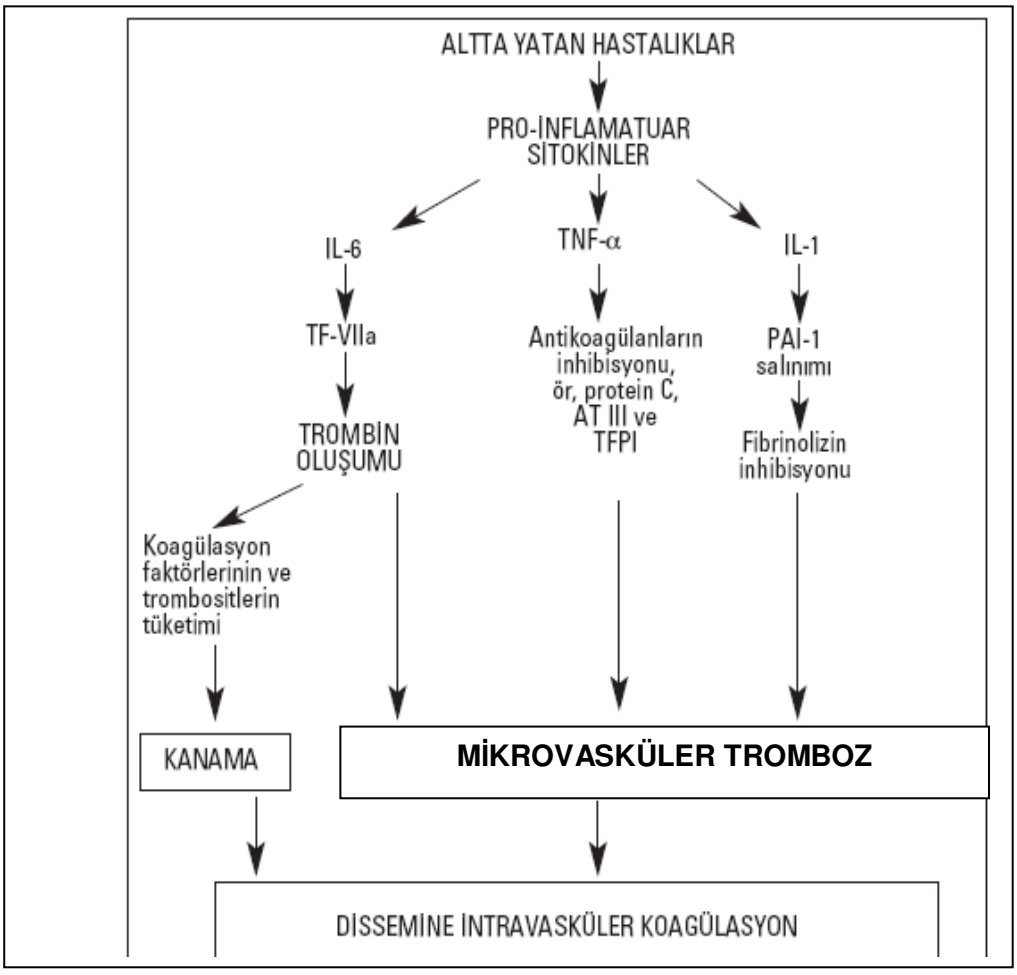
1.5. Dissemine İntravasküler Koagulasyon

Şiddetli sistemik infeksiyon sonucu septik şok ve multiple organ bozukluğu oluşabilmektedir (Levi ve ark 1997). Sepsisin erken döneminde sitokinlerin salınması, doku işemisi ve organ bozukluğu ile sonuçlanan bir dizi olayları stimule eder. Bu olaylar; intravaskuler fibrin birikimi, trombositler, nötrofiller, eritrositlerin mikrotrombus yapısında mikroagresyonu, kan akımının ve doku yapısının bozulması, küçük kapiller damar tıkanıklığına yol açabilen fibrinler gibi koagulasyon öncesi durumlardır. Sepsisli hastalarda mortalitenin artmasıyla ilişkili olan bu sendrom DIC olarak tanımlanmıştır (Tsiotuo 2005). Dissemine intravaskular koagulasyon terimi genel olarak küçük damarlarda diffuz trombozis ve sekonder fibrinolizisin geliştiği bir sendromu tanımlamak için kullanılır. Dissemine intravaskular koagulasyon primer bir bozukluk olmayıp her zaman diğer klinik durumlarla birlikte oluşur (Turgut 2000, Ho ve ark 2005).

Dissemine intravaskular koagulasyon hem hiper koagulasyon hem de fibrinolitik aktivite olduğundan bir paradokstur. Bu iki gelişmenin aynı anda aktivasyonu başlangıçta pek çok organda küçük kan damarlarında intravasküler fibrin oluşumuna neden olur. Çok miktarda koagulasyon faktörleri, trombosit ve fibrinojen tüketilir. Fibrinolitik sistem bu trombusları ortadan kaldırmak için hemen aktive edilir. Fibrin ve fibrinojenin fibrinolitik uzaklaştırılması sonucu fibrin yıkımlanma ürünleri aktive edilir. Fibrinolizis sadece trombini parçalamaz, aynı zamanda normal trombosit kümeleşmesi ve fibrin polimerizasyonuyla ilgili olan

fibrin yıkımlanma ürünleri oluşumuna da neden olur (Turgut 2000). Damarlarda trombin oluşumu, doku hipoksisi ve organ hasarı ile sonuçlanarak koagulasyon faktörlerinin ve trombositlerin tüketimine neden olur (Turgut 2000, Ertuğrul ve ark 2006).

Dissemine intravaskular koagulasyonun patogenezinde pek çok mekanizma rol oynar. Doku faktörü aracılı trombin oluşumu sistemik fibrin birikimine neden olurken, aynı anda fizyolojik antikoagulantlar baskılanır ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 yoluyla da fibrinolizis bozulur. İnterlökin-6 koagulasyonun aktivasyonunun asıl mediyatörüdür ve TNF-α fizyolojik antikoagulant yolları ve fibrinolizisi inhibe eder. DIC'in patogenezinde etkili olan mekanizmalar Şekil 1.2'de gösterilmiştir (Levy ve ark.2003, Ho ve ark 2005, Ertuğrul ve ark. 2006).



Şekil 1.2. Dissemine intravaskular koagulasyonun patogenezi

IL- İnterleukin

AT III- Antitrombin III

TNF- Tümör Nekrosiz Faktör

TF- Doku Faktörü

VIIa- Aktive Faktör

PAI-1- Plazminojen aktivatör inhibitör-1

TFPI- Doku Faktörü Yolu İnhibitörü

Sepsis, DIC'in oluşumda en sık rastlanılan nedendir. Klinik olarak belirgin DIC gram negatif sepsisli hastaların %30-50'sinde oluşabilir. Septisemik hastalıklarda, bakteriyel hücre mebranı koagulasyon bozukluklarının tetiğini çekerek DIC'e yol açar. Bu bileşenler trombositlerin salınmasına ve endotelde birikimine neden olurlar. Koagulasyon faktörlerini de uyararak koagulayonu aktive ederler. Endotoksinler; sitokinler (TNF-α, IL-1) ve kompleman aktivasyonunu uyaran pro-inflamatuar durumu kolaylaştırarak endotel hasarı ve bozukluklarına yol açarak organ hasarına neden olur (Ertuğrul ve ark 2006). Irmak ve ark (2006) doğal olarak gelişen septisemili buzağılarda şiddetli hemostatik bozuklukla mortalitenin DIC ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Dissemine intravaskular koagulasyon için kullanılan laboratuar testleri; Profregment 1+ 2, D-dimer, Antitrombin-III (AT-III), trombin prekürsör protein, fibrinopeptit A, platelete faktör A, Fibrin yıkımlanma ürünleri, trombosit, protamin testi, trombin zamanı (TT), fibrinojen, protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) olarak sıralanır (Bick 2002).

1.6. İmmun Sistem Hücreleri

Vücut savunmasında görev alan hücreler farklı gelişim aşamaları geçirebilir, farklı organlarda bulunabilir veya farklı fonksiyonları yürütebilirler. Ancak, özelliği ne olursa olsun vücut savunması ile direkt veya dolaylı hücrelerin tümü, immunolojik açıdan immun sistem hücreleri olarak nitelenebilir (Diker 2005). Tüm immun sistem hücreleri pyluripotent köken (stem) hücrelerinden gelişir. Bu hücreler iki farklı yol izleyerek değişime uğrar ve tüm immun sistem hücrelerini oluştururlar. Lenfoid seriden gelişen hücreler lenfositleri, myoleid seriden gelişen hücreler ise fagositik hücreleri ve diğer hücre tiplerini oluştururlar. Lenfoid seride yer alan lenfositler, farklı görevleri yürüten T ve B lenfositler olarak adlandırılır. Lenfoid seriye ait diğer bir hücre tipi doğal öldürücü (NK) hücrelerdir. Myoleid seriden gelişen iki temel hücre grubu monosit/makrofaj (mononükleer alt seri) ve granulositlerdir (polimorf nükleer alt seri). Polimorf granülositler içinde nötrofil, euzinofil ve bazofiller yer alır. Bu iki seriye ek olarak mast hücreleri gibi kökeni tam belli olmayan hücreler de vardır (Yılmaz 1984, Diker 2005).

B lenfositleri humoral immun yanıttan yani antikor oluşumdan sorumlu hücreler olup her bir B hücresi sadece tek bir antijene spesifik antikor oluşturur.

Antijenik bir uyarım sonucu aktive olan B lenfositlerin bir kısmı plazma hücrelerine dönüşürken, bir kısmı da bellek B hücrelerine dönüşür. Uyarılmış B lenfositlerden köken alan plazma hücreleri bir saat içinde çok sayıda immunglobulin molekülü üretebilir. Yaşam süreleri boyunca (3 gün-4 hafta) antikor üretebilir ancak bölünemezler. Bellek B hücreleri ise uzun ömürlü IgG sınıfı antikor taşıyanlar ve daha kısa ömürlü bölünebilen IgM taşıyanlar olmak üzere iki tipten oluşmaktadır (Diker 2005).

T lenfositleri hücresel immun yanıttan sorumlu olup, bazı tipleri ile antikor yanıtına da yardımcı olabilmektedir. Periferal kandaki lenfositlerin çoğu (% 80) T lenfosittir. T lenfositlerin yüzeylerinde çok sayıda reseptör vardır ve her bir T hücresi tek bir antijene spesifik olarak bağlanabilir. Yardımcı T lenfositler, yabancı antijene karşı immun yanıtı ilk gerçekleştiren hücrelerdir. B ve T lenfositler, yardımcı T lenfositler tarafından uyarılmadıkça antijenlere karşı cevap veremezler. Sitotoksik T lenfositleri, hücre içinde yaşayan virüsler ve bazı bakterilerin etkisiz hale getirilmesinde görev alırlar (Yılmaz 1984, Diker 2005).

Doku ve perifer kan frotilerinde T-lenfosit, B lenfosit ve monositlerin birbirlerinden ayırt edilmelerinde lizozomal bir enzim olan *alfa-naftil asetat esteraz* (ANAE) enzimi kullanılmaktadır (Mueller ve ark 1975, Higgy ve ark 1977, Knowles ve Holck 1978, Pangalis ve ark 1978, Ranki 1978, Knowles ve Halper 1980, Pruthi ve ark 1987, Blindar ve ark 1993). Enzimin, T-lenfosit olgunlaşmasının ileri aşamalarında kazanıldığı bildirilmiştir (Basso ve ark 1980). Pek çok farklı esteraz grubu enzimler gibi ANAE enziminin de, aktive olan T-lenfositlerin sitotoksik fonksiyonları ile makrofajların fagosite ettikleri materyalleri parçalamalarında rol aldığı düşünülmektedir (Mueller ve ark 1975). T ve B lenfosilerin ayrımında yararlanılan ANAE enziminin başta insan (Li ve ark 1972, Çelik ve ark 1991) olmak üzere, sığır (Yang ve ark 1979, Kajikawa ve ark 1983), tavuk (Maiti ve ark 1990), köpek (Wulff ve ark 1981, Aştı ve ark 1993), kedi (Yörük ve ark 1998), hindi (Ergün ve ark 2004a), deve kuşu (Ergün ve ark 2004b) ve farelerde (Mueller ve ark 1975) spesifik olduğu bildirilmektedir.

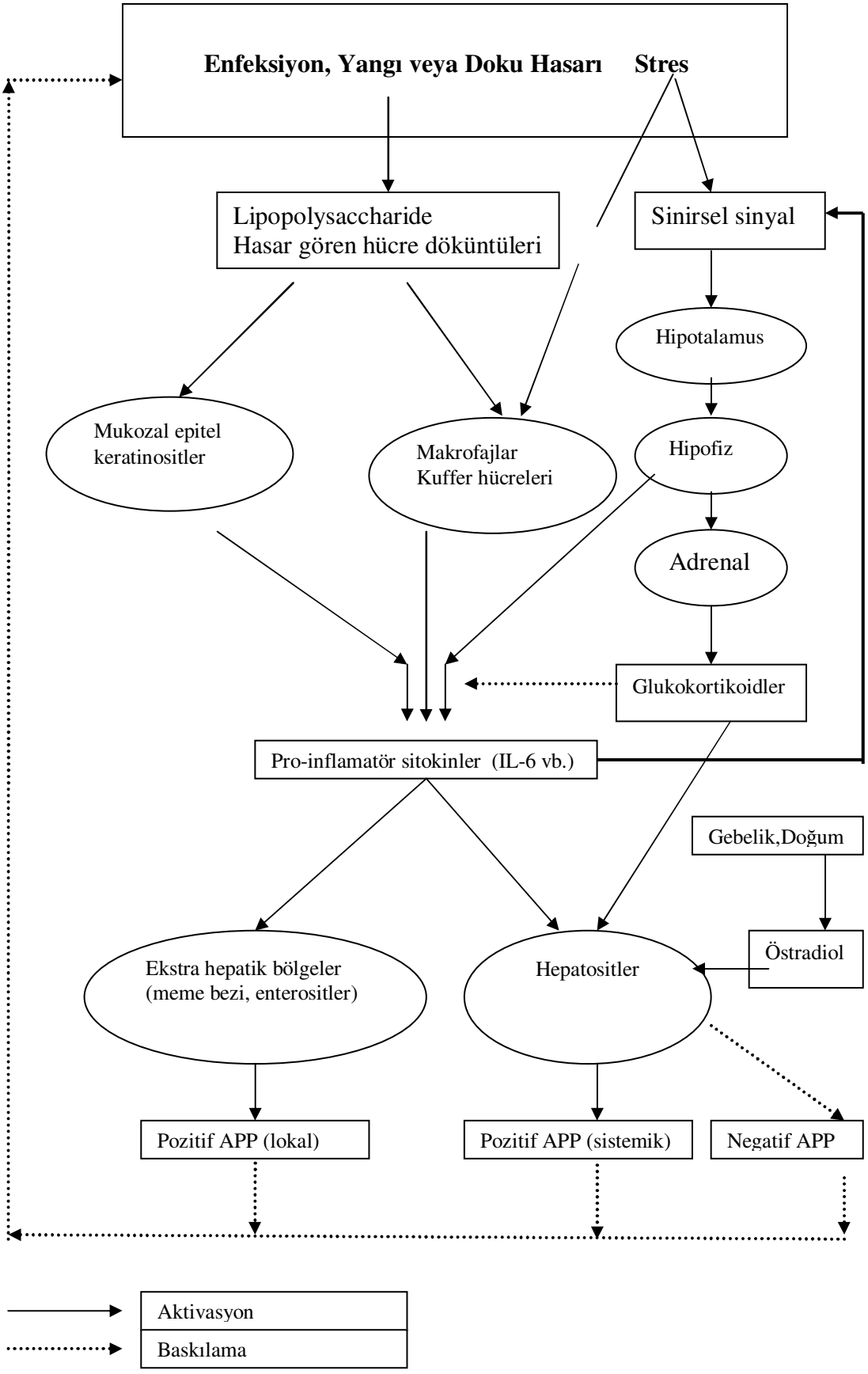
1.7. Akut Faz Proteinler

1.7.1. Akut faz proteinlerin fizyolojisi

Akut faz cevap; immunolojik hastalıklar, neoplastik oluşumlar, travmalar, doku yaralanmaları veya enfeksiyonların sebep olduğu lokal veya sistemik hemostazis bozukluğuna karşı oluşan önemli sistemik bir reaksiyondur. Mikroorganizmalar veya travmalar tarafından etkilenen dokular kendi başına çok sayıda cevabı başlatır. İlk olarak Pro-inflamatör sitokinler salınır, vasküler sistem ve yangısal hücreler aktive edilir. Bu cevapların oluşması ile sitokin ve dolaşımdaki diğer yangısal mediatörlerin üretimi artar. Sitokinler, hipofiz bezinin adrenal bölgesini aktive ederek ve büyüme hormon sekresyonunu azaltarak sistemik bir reaksiyona neden olan farklı hedef hücreler üzerindeki reseptörleri aktive eder. Bu aktivasyon sonucu ateş, anoreksi, negatif nitrojen balansı, kas hücrelerinin yıkımlanması, plazma düşük ve yüksek dansiteli kolesterol seviyelerinde azalma, lökositozis, ACTH ve glukokortikoid salınımında artış, komplement sistem ve kan pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu, serum Ca, Zn, Fe, vitamin A ve alfa-tokoferol seviyesinde azalmanın yanı sıra akut faz proteinleri olarak bilinen bazı plazma proteinlerde değişiklikler meydana gelir (Dinarello 1989, Gruys ve ark 1994, Niewold ve ark 2003). Enfeksiyondan sonraki ilk saatler içerisinde karaciğerden sentezlenen bazı kan proteinlerinde şiddetli düşüş gözlenir. Bunlar Transthyretin (prealbumin), kortizol binding protein, transferrin, ve albumin gibi negatif APP'lerdir (Niewold ve ark. 2003). Bazı APP'ler ise bu süre içinde önemli artış gösterirler. C-reaktif protein (CRP), Serum Amiloid-A (SAA), haptoglobin (Hp), seruloplazmin (Cp), fibrinojen, alpha 1-asid glikoprotein (AGP) gibi proteinler pozitif APP'lerdir (Niewold ve ark 2003, Murata ve ark 2004).

Interleukin-6, TNF-α ve IL-1β gibi pro-inflamatör sitokinler karaciğerden sentezlenen APP'lerin temel mediatörleridir. İnterleukin-6 daha çok hepatik akut faz cevabında etkili olurken IL-1 ve TNF ekstrahepatik akut faz cevapta etkilidir. Bu sitokinler temel olarak makrofajlardan salınır fakat aynı zamanda internal veya eksternal uyarımlar sonucu diğer hücrelerden de salınır. İnterleukin-1 aktive edilmiş monosit ve makrofajlar tarafından üretilirken TNF, lipopolisakkaridlerce stimüle edilen makrofajlardan salınan bir polipeptittir. İnterleukin-6 karaciğer kuffer hücrelerinden, keratinositlerden, hipofizden veya mukozal epitelden sentezlenebilir. Yangı, enfeksiyon veya doku hasarında savunmayı organize eden hücreler tarafından

sitokinlerin salınması uyarılacaktır. Böylece APP'lerin sentezlenmesi de uyarılır. İnsanlarda ve deney hayvanlarında fiziksel ve fizyolojik stresin plazma IL-6 ve APP seviyelerini artırdığı ifade edilmiştir. Ayrıca fiziksel stresin sığırlarda da APP'lerini artırdığı bildirilmiştir. Şekil 1.3'te APP'lerin üretimi gösterilmiştir (Nukina ve ark. 2001, Yoshioka ve ark 2002, Murata ve ark 2004).



Şekil 1.3 APP'lerin üretimi ve düzenlenmesi

1.7.2. Negatif akut faz proteinler

Fiziksel veya enfeksiyöz etkenlere bağlı olarak karaciğerden sentezlenmeleri azalan proteinlerdir. Serum albumin, transferin, kortizol binding globulin, transthretin ve retinol-binding proteinler negatif akut faz proteinler olarak belirlenmiştir (Niewold ve ark 2003).

1.7.2.1. Albumin

Başlıca karaciğerde sentezlenen ve plazma proteinlerinin % 50'sini oluşturan albuminin plazma yarılanma ömrü hayvan türlerine göre değişmekle birlikte 10-23 gün kadardır. En yüksek oranda depo edilen ve en büyük amino asit taşıyıcısı proteindir. Serum konsantrasyonunun en fazla olması, küçük hacmi ve plazma ozmotik aktivitesinin ortalama %75'ini sağlaması nedeniyle ozmotik olarak en aktif plazma proteinidir. Diğer önemli fonksiyonları bağlayıcılık ve taşımadır. Plazmadaki hemen hemen tüm yapılar (Bakır, çinko, kalsiyum, yağ asitleri, ilaçlar) albumine bağlanıp taşınır (Turgut 2000). Tiroksin, triodotreonin, aldesteron ve kortizol gibi hormonları bağlayarak kullanıma hazır depo olarak tutar (Tiftik 1996). Albumin konsantrasyonu başlıca hepatik sentezin azalması, yıkımlanmasının artması, bağırsak veya idrar yolu ile aşırı kaybı (ekstrahepatik) ile azalır. Plazma albumin konsantrasyonu dehidrasyonda ise artar (Turgut 2000).Hipoalbuminemiye sebep olan durumlar Tablo 1.2'de belirtilmiştir.

Tablo 1.2. Hipoalbuminemi nedenleri (Turgut 2000)

Üretimin azalması
Hiperglobuneminin neden olduğu sentezin azalması
Kronik karaciğer yetmezliği
Uzun süre düşük proteinli diyetle besleme
Uzun süre yetersiz kalori alımı
Maldigesyon (ekzokrin pankreatik yetmezlik)
Malabsorpsiyon
Kaybının Artması
Protein kaybına neden olan nefropati
Protein kaybına neden olan enteropati
Hemoraji (İnternal vucut boşluğu, doku aralıkları)
Yaygın deri lezyonları (Yanıklar)
Eksternal hemoraji

1.7.3. Pozitif akut faz proteinler

Evcil hayvanlardaki APP'ler insandakine benzerlik gösterir. Canlı türlerine göre pozitif akut faz proteinleri Tablo 1.3'de verilmiştir (Niewold ve ark 2003).

Tablo 1.3. Canlı türlerine göre Pozitif APP'ler

Tür	Temel (Major)	Hafif – Ilımlı (Minör)	Değişmeyenler
İnsan	SAA – CRP – LBP	Hp – AGP – Fibrinojen	SAP – α2MG
Sığır	Hp	SAA-Cp-α2MG-LBP-AGP-CRP	SAP
Koyun	Hp	Cp- Fibrinojen	CRP
Keçi	Hp		CRP
Köpek	CRP- SAA	Hp – AGP – Cp	
Kedi	SAA	CRP – Hp – Cp	
At	SAA – CRP	Hp – Fibrinojen – AGP	
Domuz	MAP – CRP – Hp	SAA – Cp – AGP	
Tavşan	SAA – CRP – LBP	α2MG	
Fare	SAA – SAP	AGP – LBP – CRP	
Hamster	SAA – CRP		
Tavuk	CRP – SAA –AGP Fibrinojen –CRP-SAA		
Balık	CRP – SAA		

AGP α1 asid glikoprotein

CRP C-Reaktif protein

Cp Seruloplazmin

LBP Lipopolysaccharide binding protein

SAP Serum amiloid P komponent

α2MG α2-makroglobulin

Hp Haptoglobin

MAP Domuz temel akut faz protein

SAA Serum amiloid A

1.7.3.1. Haptoglobin

Haptoglobin, α-globulin yapısında olup plazmada parçalanan eritrositlerden açığa çıkan hemoglobini bağlayan bir APP'dir. Plazmadaki proinflamatör ve toksik olan serbest hemoglobinleri bağlayarak hemolizle ilişkili oksidatif hasarın azalmasında görevli olduğu ve immunomodilatör etkili olduğu ifade edilmektedir. İmmunmodulasyonun CD11/CD18 reseptörlerine Hp'nin bağlanmasıyla oluştuğu ifade edilmektedir. Haptoglobin bakterisidal aktiviteye, fagositozis ve granülosit şemotaksis üzerinde inhibe edici özelliğe sahiptir. Mast hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği, epidermal langerhans hücrelerinin spontonoz olgunlaşmasını engelleyebildiği veya T hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı belirtilmektedir (Niewold ve ark 2003, Murata ve ark 2004).

Ruminantların temel akut faz proteinlerinden olan Hp'in sağlıklı bireylerdeki serum seviyesi 10µg/ml veya daha düşüktür. Çeşitli nedenlerle immun sistem uyarıldığı anda serumdaki seviyesi 100 kata kadar artarken, hemolitik anemi ve sarılık durumlarında düşük seviyelerdedir (Eckersall 2000, Chan ve ark 2004, Murata ve ark 2004). Mastitis, pnömoni, enteritis, peritonitis, endokarditis, apse, endometritis ve diğer doğal veya deneysel enfeksiyon oluşturulan sığırlarda yangısal cevabın şiddeti ve görünümünü belirlemek amacıyla haptoglobinin klinik olarak faydalı bir parametre olduğu pek çok araştırıcı tarafından belirtilmiştir (Heegaard ve ark 2000, Eckerseall ve ark 2001, Ohtsuka ve ark 2001, Murata ve ark 2004). Haptoglobin, toksik puerperal mastitisli sığırlarda antibiyotiğin tedavideki etkinliğini belirlemede ve SAA ile birlikte ölçümü ile sığırların akut ve kronik yangıların ayrımında kullanılabileceği ifade edilmiştir. Serum amyloid A akut yangılı vakalarda kronik vakalara göre daha yüksek bulunmuştur (Eckersall 2000). Ayrıca Hp'nin ölçümü ile; erkek buzağıların kastrasyonunu takiben antienflamatuar ilaçların etkisi, doğum sonrası uterusun involusyonu ve bakteriyal kontaminasyonun varlığı, transportun stres oluşturduğu sığırlarda tedavinin etkinliği, kuyruk kesimi veya kastrasyonun etkisi ve neonatal buzağıların kan profilindeki değişiklikler belirlenebilmektedir. Yükselmiş Hp konsantrasyonu sadece yangıyı göstermez aynı zamanda yangı veya doku hasarı ile ilişkili olmayan bazı durumları da ifade edebilir. Haptoglobin konsantrasyonu yağlı karaciğer sendromlu sığırlarda, açlık ve dekzamatozon tedavisinde ve taşınma sırasında oluşan strese bağlı olarak da buzağılarda yükselebilir (Murata ve ark 2004).

Buzağılarda deneysel olarak terebentin enjeksiyonu ile oluşturulan akut faz cevapta, fibrinojen, α1-asid glikoprotein, seruloplazmin (başlangıç seviyesinin 2 katı), haptoglobin (bazal seviyesinin 100 katı) artışı ile sonuçlanmıştır. α1-antitrypsin seviyesi çok az oranda artarken (%37) enjeksiyondan sonraki 2-3 gün içinde albumin seviyesi %20 oranında düşmüştür (Conner ve ark 1988). Pozitif APP'lerin benzer davranışları değişik patojenlerle oluşturulan solunum sistemi enfeksiyonu ve mastitiste de elde edilmiştir. Viral enfeksiyonların daha düşük seviyede akut faz cevap oluşturduğu düşünülmesine rağmen, buzağılarda deneysel *Bovine Respiratory Syncytial Virus* (*BRSV*) ile oluşturulan enfeksiyonlarda SAA, kontrol grubunun düzeyi olan 17µg/ml'den yaklaşık 80 µg/ml seviyesine çıkarken, Hp seviyesinin ise 10mg/ml'ye kadar yükseldiği bildirilmiştir. Haptoglobinin SAA'ya göre daha yüksek miktarda artış göstermesine rağmen, *BRSV* enfeksiyonunda SAA'nın Hp'den daha duyarlı bir APP olduğu ifade edilmiştir (Heegaard ve ark 2000).

Sığırların temel APP'lerinin mastitis veya diğer patojenlerin klinik semptomların şiddeti ile ilişkili olduğu, akut veya kronik yangısal durumlarının ayrımında faydalı bir parametre olabileceği bildirilmiştir (Eckersall 2000, Pineiro ve ark 2003). Akut faz proteinlerin diğer bir uygulama alanı da sütteki konsantrasyonlarının belirlenmesiyle de mastitisin erken tanısında kullanılmasıdır (Heegaard ve ark 2000, Pineiro ve ark 2003). Sağlıklı ve postpartum metritisli sığırlarda Hp konsantrasyonunun belirlendiği çalışmada, Hp konsantrasyonun postpartum reproduktif hastalıklı sığırlar için yararlı bir indikatör olabileceği vurgulanmıştır (Chan ve ark 2004).

Haptoglobinin koyunlarda güç doğumun prognozunda, enfeksiyöz hastalıkların ve doku hasarının teşhisinde faydalı olduğu ve koyunlarda intrauterin bakterinin varlığı, uterus involusyonu arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla da kullanılabileceği belirtilmiştir. Fakat, Hp konsantrasyonu kuzuların kastrasyonunda veya kuyruk kesiminde değişmediği ifade edilmiştir (Regassa ve Noakes 1999, Price ve Nolan 2001). Haptoglobin, keçilerde uterus involüsyonu ile intrauterin bakteri varlığı arasındaki ilişkinin araştırmalarında kullanılabileceği ifade edilmiştir. Maya enfeksiyonundan sonra, seruloplazmin ve fibrinojen seviyesi 2-4 kat artıp, albumin azalırken, Hp seviyesi 100 kata kadar artış gösterdiği belirtilmiştir (Murata ve ark 2004).

Sığırlarda sağlık durumlarının belirlemesinde önemli bir parametre olarak düşünülen Hp ölçümü ile kasaplık hayvanlarda özellikle kesime sevk edilecek sığırlarda gıda güvenliğinin belirlenmesinde kullanılabileceği ifade edilmektedir (Eckersall 2000). Deneysel *Salmonella spp.* ile enfeksiyon oluşturulan buzağılarda, diyare ve beden ısı artışı gibi enfeksiyonunun klinik belirtileri ile Hp konsantrasyonu arasında korelasyon tespit edilmiş, bu yüzden serum Hp seviyesi genç buzağılarda S*almonella* enfeksiyonunun indikatörü olabileceği ve prognozun belirlenmesine katkı sağlayabileceği belirtilmiştir (Deignan ve ark 2000). Humblet ve ark (2004) bronkopnömonili buzağılarda Hp konsantrasyonunun hastalığın şiddetine göre dereceli olarak artış gösterdiğini, Hp konsantrasyonu ve fibrinojen seviyesindeki artışların birlikte değerlendirilmesinin hastalığın şiddetini belirlemede faydalı olabileceğini belirtmişlerdir.

1.7.3.2. Serum Amyloid A

Serum Amiloid A, plazmada yüksek dansiteli lipoprotein fraksiyonlu bir akut faz apolipoproteindir (Urieli-Shoval ve ark 2000, Niewold ve ark 2003, Murata ve ark 2004). Yangı sırasında konakçı savunmasındaki rolü tam olarak anlaşılmamış olup çeşitli etkileri bildirilmektedir. Bu etkiler; endotoksinlerin detoksifikasyonu, lenfosit ve endotelial hücre proliferasyonu, trombosit kümeleşmesini ve ekstraseluler matriks proteinlere T-lenfosit adhezyonlarını inhibe etmesi olarak sıralanabilir (Murata ve ark 2004). Aynı zamanda, fagositlerin göçünü yönlendirmesi ve myeloperoksidaz salınımını inhibe etmesiyle yangısal sürecinin regulasyonunu azaltmada da rolü olduğu tespit edilmiştir. TNF-α, IL-6 ve IL-1–β gibi pro-inflamatör mediatörlerin stimulasyonuyla intestinal epitelial hücreler SAA'yı sentezlerler. SAA'nın endotoksine karşı bağırsakların lokal savunma mekanizmasında rolü olduğu belirtilmektedir. Meme bezi ile ilişkili SAA'nın sekresyonu sağlıklı sığır, at ve koyunda tespit edilmiştir. Bunun da yeni doğan yavruların ekstrauterin yaşamların adaptasyonunda bir ilişkisinin olabileceği ileri sürülmüştür (Mcdonald ve ark 2001, Niewold ve ark 2003, Murata ve ark 2004).

Serum Amyloid A'nın etkisi genellikle immunmodülasyondur. SAA, PGE2 üretimini, bazı sitokinlerin pirojenik etkisini, nötrofillerin oksidatif solunumunu ve trombosit aktivitesini azaltır, antikor üretimini baskılar ve fibroblastlardan kollajenaz sekresyonunu indükler. HDL'e bağlı olmayan, serbest SAA, sitokin benzeri nötrofil, T lenfosit ve polimorfonüklear lökosit kemotaksisi yapıcı etkiye sahiptir. Serum

Amiloid A, merkezi sinir sistemi ve sinovyal sıvıda bulunabilir. Sinovyal dokuda bulunması nedeniyle pekçok eklem hastalığı ile ilişkilidir. İnflamatuar artritte SAA seviyesi artarken, noninflamatuar ya da travmatik artritte SAA seviyesinde artış yoktur. Menenjitli hastalarda enfeksiyon etkeninden bağımsız olarak beyin omirik sıvısı SAA seviyesi artar. Pekçok çalışma SAA'nın birçok hastalıktaki önemini vurgulamıştır. Akut hastalıklarda, özellikle viral ve bakteriyel olanlarda, SAA seviyesi erken dönemde (genellikle klinik belirtiler başlamadan 2 gün önce) yükselir ve pik düzeye ulaşır. İnflamatuar stimulus kesilince birkaç günde normale döner (Gürsu 2005).

Serum Amyloid A ölçümleri veteriner tanıda Hp kadar geniş uygulama alanı bulamamıştır. Bu muhtemelen SAA seviyesinin ölçümünün zorluğundan kaynaklanmaktadır. Mastitisli inek ve koyunlarda Serum Amyloid A'nın serum ve sütteki artışı ile yangının tespiti yapılabilmektedir. Serum Amiloid A seviyesi doğum yapan ve fiziksel strese maruz kalan sığırlarda da artabilir. Bu durum APP'in yangısal olmayan durumlarda da artabileceğini göstermektedir (Eckersall ve ark 1999, Murata ve ark 2004).

Sağlıklı ineklerde sütte Hp ve Milk Amyloid A (MAA) düzeyleri belirli bir limitte (0,5mg/l ve 0,6mg/l) seyreder. *Staphylococcus aerous* ile deneysel oluşturulan akut ve kronik mastitis süresince sütte Hp ve MAA düzeylerinde artış tespit edilirken, kronik subklinik mastitis süresince sadece MAA seviyesinde yükselme gözlenmiştir (Grönlund ve ark. 2003). Jacopsen ve ark (2003) *E. coli* ile deneysel olarak oluşturdukları mastitis vakalarında SAA seviyelerini araştırmışlar ve normal sütte SAA tespit edilemediğini, mastitisli sütte SAA konsantrasyonunun (6-12. saat) serumdaki konsantrasyonundan (12-24. saat) önce yükselmeye başladığını belirtmişlerdir. Diğer taraftan deneysel olarak *E. coli* enfeksiyonlu mastitisli vakalarında çok yüksek plazma ve serum SAA seviyeleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak süt SAA seviyesi mastitiste çok güvenilir bir parametre olduğu vurgulanmıştır. Keçilerde deneysel oluşturulan mastitiste serum SAA ile süt SAA arasında korelasyon kurulamamış, fakat sütteki SAA konsantrasyonunda artış gözlenmiştir (Pineiro ve ark 2003).

Sığırlar üzerinde yapılan çeşitli araştırmalar, stresin de akut faz protein konsantrasyonu üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Taşıma sırasında sığırlarda serum Hp konsantrasyonunun arttığı, fiziksel stres (zemin, ağır şartları) altındaki

buzağılarda SAA seviyesi artarken Hp'in değişmediği tespit edilmiştir (Alsemgeest ve ark 1995). Kan parazitleri ve APP konusunda yapılan bir araştırmada (Glass ve ark 2003), yüksek ve düşük dozlarla *Theileria annulata* ile enfekte edilen sığırlarda SAA seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir. Etken lenf nodüllerinde şizont formunda iken ve ateşin yükselmesiyle birlikte SAA seviyesinde de artış gözlemişlerdir. Bu süre enfeksiyonun yedinci gününden itibaren başlamış ve SAA'nın en yüksek seviyeleri 9-14 günler arasında belirlenmiştir.

Haptoglobin ile birlikte SAA sığırlarda en çok çalışılan APP'dir. Serum Amiloid A akut dönemde 2-8 kat artarken, yangısal sitimulasyondan sonra hapto

globinden daha hızlı reaksiyon göstermektedir (Pineiro ve ark 2003). Serum Amyloid A konsantrasyonunun artışı, doku zedelenmesinden sonraki dördüncü saatte başlarken yaklaşık 18. saatte en üst seviyesine ulaşır. Bakteriyel endotoksinler SAA'nın yangıdaki seyrini belirlemede sıklıkla kulanılmıştır (Boosman ve ark 1989).Akut ve kronik yangıların ayrımı için Hp ile birlikte değerlendirildiğinde hematolojik testlerden daha kullanışlı olduğu belirtilmiştir (Horadagoda ve ark 1999).

1.7.3.3. Fibrinojen

Karaciğer mikrozomlarında sentezlenen fibrinojen, fibrin formasyonu için bir substrat sağlaması ve yangısal hücrelerin göçü için bir matriks oluşturarak doku tamirinde rol almasından dolayı hemostaziste önemli rolü olduğu belirtilmiştir. Spesifik olarak fibrinojen, göç eden fagositlerin hücre yüzeyindeki CD11/CD18'lere bağlanır ve apoptozisin gecikmesine, antikora bağlı hücresel sitotoksiteye, fagositozis ve granülasyonun artmasına neden olan intraselüler mekanizmaları başlatır (Thomas 2000, Rubel ve ark 2001, Murata ve ark 2004). Ekstravasküler bölgeye geçerek hastalık gelişimini lokalize etmeye yardımcı olur (Turgut 2000).

Fibrinojen, sığır ve koyunlarda bakteriyel enfeksiyonlar veya cerrahi travmalara bağlı oluşan yangının varlığını belirlemek amacıyla kullanılan güvenilir bir APP'dir (Murata ve ark 2004). Genellikle enfeksiyöz, irinli, travmatik ve neoplastik hastalıklarda artış gösterir. Aktif kronik hastalıklarda yüksek seviyesi devamlı olurken, akut doku hasarında 3-4 gün içinde en yüksek seviyelerine çıkar ve sonra düşer. Artışındaki derece ile hastalığın şiddeti arasında her zaman direkt bir ilişki yoktur. Hafif ve orta dereceli yangılarda Fb konsantrasyonundaki artış ile

lökositozis ve nötrofili arasında da ilişki yoktur. Sığırlarda 800mg/dl üzerindeki artışlar yangıyı gösterirken, 1000mg/dl üzerinde olması prognozun iyi olmadığını gösterir (Turgut 2000). Ok ve Aslan (1994) retikulo-peritonitis travmatikalı sığılarda yapmış oldukları çalışmalarında fibrojen seviyesinin 1000mg/dl veya daha üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir. Ganheim ve ark (2004) buzağılarda *Dictyocaulus viviparus* ile deneysel oluşturulan enfestasyonlarda, serum Fb, Hp ve SAA düzeylerinde önemli yükselmelerin olduğunu tespit etmişlerdir. Yüksek APP ile beraber euzinofil sayısındaki artış birlikte değerlendirildiğinde, APP'lerin akciğer kurtlarının bir göstergesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Murata ve ark 2004). Buzağılarda Fb seviyesinin prognostik önemi olduğu ve bronkopneumonili buzağılarda plazma Fb seviyesi 800mg/dl'den yüksek ise prognozun kötü olduğu belirtilmektedir (Turgut 2000).

1.7.3.4. Alfa 1-asid glikoprotein (Orosomucoid)

Alfa 1-asid glikoprotein, çoğunlukla hepatositler tarafından sentezlenmekle birlikte ekstra hepatik olarak da sentezlenebilmektedir. Lokal AGP'ler ekstrahepatik hücrelerde meydana gelen yangısal süreçle ilgili doku hasarlarını azaltan hemostazisin sürdürülmesine katkı sağlayabilir. Sistemik AGP'in ilaca bağlanma ve immunmodulasyon gibi iki önemli fizyolojik fonksiyona sahiptir. Serumda heparin, histamin, serotonin ve steroidler gibi endojen veya eksojen maddelerin taşınmasını sağlayan AGP'ler doğal anti-enflamatuar ajandır. AGP nötrofil aktivasyonunu inhibe eder ve makrofajlar tarafından IL-1 reseptör antagonistlerin sekresyonunu arttırır. Alfa 1-asid glikoprotein LPS'ye direk bağlanarak lipopolisakkaridlerin temizlenmesine ve toksisitenin nötralizasyonuna katkı sağlar (Moore ve ark 1997, Fournier ve ark 2000, Murata ve ark 2004).

Alfa 1-asid glikoprotein sığırlarda klinik önemi olan bir APP'dir. Yangısal sürecin gözlenmesinde kullanılır (Pineiro ve ark. 2003, Murata ve ark. 2004). Sığırlarda deneysel olarak *Theileria annulata* enfeksiyonu oluşturulan bir çalışmada, SAA ve α1 AGP seviyeleri ile hastalığın şiddeti arasında ilişki ortaya konmaya çalışılmış, sadece α1-AGP seviyesinin klinik semptomların şiddeti ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. APP'lerin üretimi ile klinik, hematolojik ve parazitolojik parametreler arasındaki en tutarlı korelasyonun vücut ısısının 39,5°C'ye yükseldiği ve şizontların tespit edildiği dönemde gözlendiği belirtilmiştir (Glass ve ark 2003).

1.7.3.5. C-reaktif protein

Karaciğerde sentezlenen bu protein akut hastalıklarda hücre duvarındaki C-polisakkaride bağlandığı için bu ismi almıştır. C-reaktif proteinin şemotaksi ve nötrofillerin yıkımlanmasını engellediği, yangısal cevabının düzenlenmesinde, otoimmunizasyonun önlenmesinde, hasarlı dokuların temizlenmesinde, toksik otojen maddelerin detoksifiye edilip uzaklaştırılmasında ve enfeksiyonlardan korunmada önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Mold ve ark 2002).

C-reaktif protein diğer türlerde kullanıldığı gibi sığırlarda da yaygın olarak kullanılmakla birlikte sığırlarda APP olup olmadığı tam olarak aydınlatılmamıştır. Sığırda CRP'in karaciğerde sentezlenmesinden ziyade laktasyonla ilişkili olduğu belirtilmektedir (Murata ve ark 2004). Domuzlarda subkutan terebentin enjeksiyonu sonrasında CRP seviyesinin 48 saat içinde 6-8 kat artmış olduğu belirtilmiştir (Lampreave ve ark 1994). Sağlıklı hayvanlarda CRP düzeyinin araştırıldığı bir çalışmada (Lee ve ark 2003); ahır şartları, beslenme gibi yönetim sisteminin en iyi olduğu çiftliklerde CRP düzeyi en alt sınırda tespit edilirken, ahır şartlarının kötü olduğu çiftliklerde ise CRP düzeyinde artma görülmüştür. Aynı araştırmada CRP seviyesini stres, laktasyon dönemi, gebelik süreci, mastitis ve akut enfeksiyonlarda çeşitli derecelerde yükseldiği belirtilmiştir. Laktasyondaki sağlıklı ineklerde CRP seviyesi 3-4 kat, mastitis vakalarında 100 kat, akut enfeksiyonlarda 295 kata kadar yükseldiği ifade edilmiştir. CRP sığırlar için bir akut faz protein olarak bildirilmemesine rağmen mastitis indikatörü olarak test edilmiştir (Pyorala 2003). Enfeksiyöz hastalıkların klinik semptomları ortaya çıkmadan önce, enfeksiyöz faktörlerin varlığında CRP düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Bu yüzden CRP'in sürü sağlığının değerlendirilmesinde ve hastalıkların erken izlenmesinde kullanışlı olabileceği belirtilmiştir (Lee ve ark 2003). Kolostrumla beslenen yeni doğan buzağılarda, kolostrum almadan önce ve kolostrum aldıktan sonra CRP düzeyleri araştırılmış ve kolostrum aldıktan bir gün sonra serum CRP düzeyinin kolostrum almadan önceki düzeyden önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. CRP'in bireysel dirençte etkili bir kompanent olarak değerlendirilmiştir. Sığırlarda özellikle de yeni doğan buzağılarda bazı mikroorganizmaların elimine edilmesinde ve immun savunmada CRP'nin yardımcı bir faktör olduğu belirtilmiştir (Schroedl ve ark 2003).

1.7.3.6. Seruloplazmin

Seruloplazmin, bakır içeren bir ferrooksidaz olup, demir orjinli serbest radikallere karşı dokuları korumada görev alır. Pek çok antioksidan maddenin yapısında ve sitoprotektif aktivitelerde görev alan Cp, büyük ölçüde karaciğer tarafından sentezlenmekle beraber ekstrahepatik olarak da sentezlenebilmektedir. Akciğerdeki temel kaynağının hava yolu epitelyumları olduğu ve endotelyuma bağlanan nötrofil sayısını azaltarak anti-enflamatuar etkinlik gösterdiği belirtilmektedir (Inoue ve ark 1999, Patel ve ark 2002).

Seruloplazmin, diğer APP'lere göre daha az yaygın olarak teşhiste kullanılmaktadır. Fakat bazı araştırmalarda (Conner ve ark 1986, Conner ve ark 1988), bu ferroksidaz sığırlarda enfeksiyonun bir belirteci olarak değerlendirilmiştir. Buzağılarda Salmonellosis enfeksiyonunda Cp düzeyinin ilk üç gün arttığı ve dördüncü günde en yüksek seviyesine ulaştığı belirtilmektedir (Murata ve ark 2004) Koyunlarda maya enfeksiyonlarında da seruloplazminin dört kat arttığı belirtilmiştir (Pineiro ve ark 2003).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma öncesinde Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kuruluna sunulan projede, kurulun 30.06.2005 tarih ve 2005/016 sayılı kararı ile etik kurul yönergesi ilkelerine uyulduğu belirtilmiştir.

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan materyali

Bu araştırmanın hayvan materyalini Konya bölgesindeki yerel bir çiftlikten temin edilen 8 adet sağlıklı holştain ırkı erkek buzağı oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen buzağılar 30-45 günlük olup ağırlıkları 35-60 kg arasında idi.

Buzağılar araştırmaya başlamadan önce bir hafta boyunca gözlem altında tutularak günlük rutin klinik ve hematolojik muayeneleri yapıldı. Klinik ve laboratuar analizleri sonucu sağlıklı olduklarına karar verilen buzağılar uygulamaların rahat yapılması için dörderli iki gruba ayrıldı. Buzağılar deneme öncesi ve deneme süresince normal beslenmeye alındı. Ayrıca buzağılara sürekli su sağlandı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Endotokseminin oluşturulması

Lipopolisakkarid infüzyonu öncesi buzağılar 12 saat aç bırakıldı ve LPS infüzyonundan 24 saat önce V*ena jugularis*'e intravenöz kateter yerleştirildi. Buzağılara 0,1µg/kg dozunda LPS (Sigma 0111:B4) 50 ml fizyolojik % 0.9 NaCl içerisinde 30 dakika süresince infüzyon şeklinde intravenöz yolla V*ena jugularis*'ten verildi.

2.2.2 Klinik muayene

Alınan her kan örneği ile birlikte eş zamanlı olarak buzağıların rutin klinik muayeneleri yapıldı. Araştırma süresince buzağıların vücut ısısı, kalp atım sayısı, solunum sayısı, solunum tipi, kapiller tekrar dolum zamanı, mukoza muayenesi, mental durum ve bilinç kaybı, ayakta durabilme yeteneği, iştah, dışkılama sayısı ve dışkı şekli değerlendirilerek kayıt edildi.

Çalışma süresince solunum tipinde gözlenen bulgulara aşağıdaki gibi sayısal değerler verilerek skala oluşturuldu;

Normal solunum 5

Mix solunum 4

Abdominal solunum 3

Şiddetli abdominal solunum 2

Şiddetli solunum güçlüğü, asfeksi 1

Solunum durması 0

Çalışma süresince buzağıların mukoza görünümlerine aşağıdaki gibi sayısal değerler verilerek skala oluşturuldu.

Normal 5

Hiperemik 4

Kirli hiperemik 3

Siyanotik 2

Şiddetli siyanoz, kuru 1

Şok tablosu 0

Çalışma süresince hayvanların iştahlarına aşağıdaki gibi sayısal değerler verilerek skala oluşturuldu.

Süt emmeye istekli 5

Hafif isteksiz 4

İsteksiz 3

Emme zayıf 2

Emme yok 1

İlgisiz hareketsiz 0

Çalışma süresince buzağılarda gelişen mental bozukluklarına aşağıdaki gibi sayısal değer verilerek skala oluşturuldu.

Normal 5

Reflekslerde hafif azalma 4

Belirgin refleks kaybı bilinç var 3

Hafif bilinç kaybı	2
Bilinç kaybı - çok az refleks	1
Tam bilinç kaybı- şok	0

Çalışma süresince buzağılarda genel görünümleri ile ilgili bulgulara aşağıda gibi sayısal değer verilerek skala oluşturuldu.

Normal	5
Ayakta, hafif sallantılı	4
Ayakta güç durabiliyor	3
Yatış pozisyonunda ayağa kalkamıyor	2
Baş önde veya yanda düzeltemiyor	1
Şok	0

Çalışma süresince buzağıların dışkılama sayısında ve şeklinde gözlenen bulgular aşağıdaki gibi sayısal değerler verilerek skala oluşturuldu.

Katı 3-4 saatte bir defa	5
Saatte 2-3 defa dışkılama	4
Hafif yumuşak	3
Jöle gibi hafif sulu	2
İshal ve pis kokulu dışkı	1
Şiddetli ishal	0

2.2.3. Kan örneklerinin alınması

Araştırmaya başlamadan 24 saat önce ve başlangıç zamanında (0. saat) ve LPS uygulamasını takiben 0,5., 1., 2., 3., 4., 6., 8., 12., 18., 24., 36., 48., 72., 96., 120., 144., 168., 192., 216. ve 240. saatlerde buzağılardan kan örnekleri alındı.

2.2.4. Hematolojik muayeneler

Alınan kan örnekleri kan gazları ölçümü, T-B lenfosit sayımı ve formül lokosit için heparinli enjektörlere, tam kan sayımı için K_3 EDTA'lı tüplere, koagulasyon parametreleri tayini için sodyum sitratlı tüplere, serum biyokimyasal analizler (Hp, SAA) için silikonlu antikoagulantsız plastik tüplere alındı. Plastik

tüplere alınan kan örnekleri 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 5000 rpm'de 15 dakika santrfüj edilerek serumları çıkarıldı. Serumlar ölçüm yapılana kadar –18 ^{0}C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

2.2.4.1. Hemogram

EDTA'lı kan örnekleri alındıktan 30 dakika içinde eritrosit sayısı (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), hematokrit (HCT), lökosit (WBC), hemoglobin (HGB), ortalama hemoglobin (MCH) ve bir eritrositteki ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) parametreleri *Medonic CA 530 Thor Hemocell Counter* cihazında belirlendi.

2.2.4.2. Kan gazları ve elektrolitlerin ölçümü

pH, parsiyal venöz karbondioksit basıncı (P_vCO_2), parsiyal venöz oksijen basıncı (P_vO_2), Na, K, Cl, HCO_{3std}, baz açığı (BE), Angonikgap, O_2 saturasyonu gibi parametrelerin ölçümü için alınan heparinli kan örneklerinden 15 dakika içinde *GEM Premier Plus* kan gazı cihazında analiz edildi.

2.2.5. Akut faz proteinlerin ölçümü:

Haptoglobin; derin dondurucuda bulunan serum örnekleri oda ısısında bekletilip çözülmesi sağlandıktan sonra 5 µl serum distile su ile 1/2000 kat sulandırıldı. Hazırlanan bu sulandırmalardan haptoglobin ölçümü için Bovine Haptoglobin ELISA Test Kit'i (*Life Diagnostics Inc. Cat. Number 2410-7*) kullanıldı. ELISA pleytinin ilk yedi gözüne 100 µl standart konuldu. Bu gözleri takip eden bölümlere 100 µl serum sulandırılmaları eklenerek 45 dakika 18-25 C°'de 100-150 rpm hızda karıştırıcıda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası pleyt ters çevrilerek gözlerin boşaltılması sağlandı ve altı kere distile su ile yıkandı. Yıkama sonrası pleyt ters çevrilip kurutulduktan sonra pleytin hergözüne 100 µl konjugat eklenip 30 dakika 18-25 C° de 100-150 rpm'de karıştırıcıda inkübe edildi. İkinci inkubasyondan sonra tekrar yıkama işlemi yapılıp 100 µl TMB reagent ilave edildikten sonra 20 dakika 18-25 C°de 100-150 rpm'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her göze 100 µl stop solüsyon konup sonuçlar 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektro-ELISA cihazında (*MWGt Lambda Scan 200, Bio-Tek instruments, inc.USA*) okundu.

Serum Amyloid A; Multispecies SAA ELİSA kitinin (*Biosource Ca. Number KNA0012*) tüm gözlerine 50 µl dilue edilmiş Biotinylated anti-SAA

konulduktan sonra ilk sekiz göze standartlar diğer gözlere sulandırılan (1/500) serum örnekleri 50 µl konulup 37 C° de 1 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrası pleyt dilue yıkama solusyonu ile yıkandıktan sonra her göze 100 µl streptavidin-Peroxidase eklenip oda sıcaklığında 30 dakika inkube edildi. Bu aşamadan sonra pleyt tekrar yıkama işleminden geçirildi. Pleytin her gözüne 100 µl TMB substrat ilave edilip tekrar 30 dakika oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda 50 µl stop solüsyonu konup 450 nm dalga boyunda spektro-ELISA cihazında (*MWGt Lambda Scan 200, Bio-Tek instruments, inc.USA*) okundu.

2.2.6. Formül lökosit ve T- B lenfosit oranlarının belirlenmesi

Hayvanlardan alınan heparinli kan örneklerinden 4'er adet froti hazırlanarak havada kurutuldu ve frotilerden ikisi May-Grünwald-Gimsa ile boyandı. Preparatlardan ANAE demonstrasyonu yapılacak olanlar ise -10 ^{o}C'deki glutaraldehid-aseton tespit solüsyonunda 3 dakika süreyle tespit edildikten sonra distile su ile 3 kez yıkanan frotiler oda sıcaklığında kurutuldu. Bu inkübasyon solüsyonu içerisinde kan frotileri 37 ^{o}C'de 2 saat kontrollü bir şekilde bekletildi. Kırmızı-kahverengi granüllerin ortaya çıkmasının ardından inkübasyon işlemi sona erdirildi ve 3 kez distile su ile yıkanan preparatlara %1'lik methyl-green ile çekirdek boyası uygulandı (Maiti ve ark 1990).

Enzim demonstrasyonu yapılan kan preparatlarının her birinde toplam 200 adet lenfosit sayılarak pozitif lenfosit oranları belirlenirken, May-Grünwald-Giemsa (Konuk 1981) yöntemi ile boyanan diğer kan preparatlarında formül lökosit oranları tespit edildi.

2.2.7. Koagulasyon profili

Sodyum sitratlı tüplere alınan kan örneklerinden plazma kısmı 30 dakika içinde 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen plazma örnekleri en geç 24 saat içinde analiz edildi. Aktive parsiyal tromboplastin zamanı, PT ve fibrinojen, *Dade Behring Btr 2* cihazı ile, trombosit (PLT) ise *Medonic CA 530 thor hemocell counter* cihazı ile ölçüldü.

2.2.8. Biyokimyasal parametreler

Alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT), aspartat aminotransferaz (AST), kan üre nitrojen (BUN), total protein (TP), laktat

dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfotaz (ALP), total bilirubin, glukoz, kreatinin, albumin ticari kitleri ile otoanalizatörde ölçüldü.

2.2.9. IgG

IgG buzağıların bağışıklık sisteminin kontrolü için çalışma öncesinde Sıngle Radial Immunodiffusion (SRID) kit (*WMRD*) ile firmanın belirtiliği prosedüre göre belirlendi.

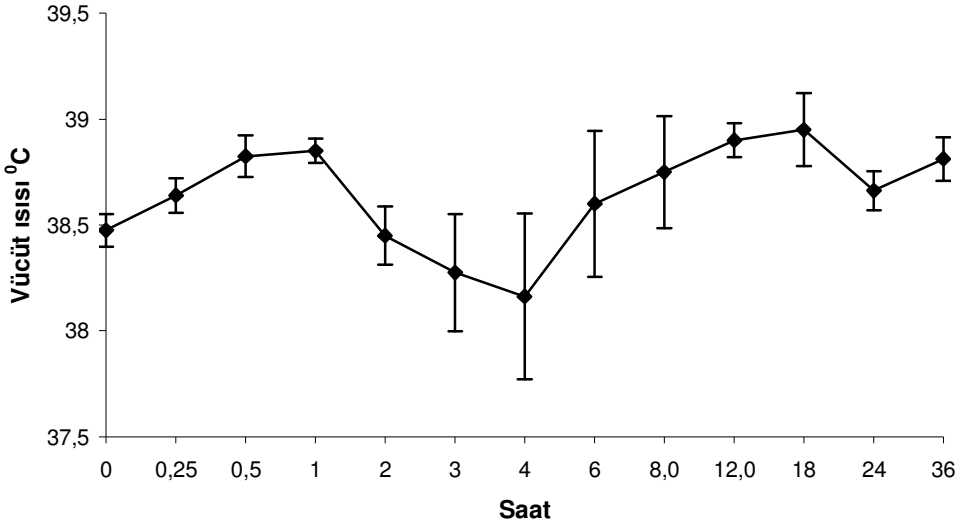
2.2.10. İstatiksel analiz

Araştırmanın başlangıcındaki kontrol (0. saat) değerleri ile LPS infüzyonunu takiben elde edilen değerler arasındaki istatistik analizleri *one- way ANOVA, TUKEY's* testi (SPSS for Windows) ile belirlendi.

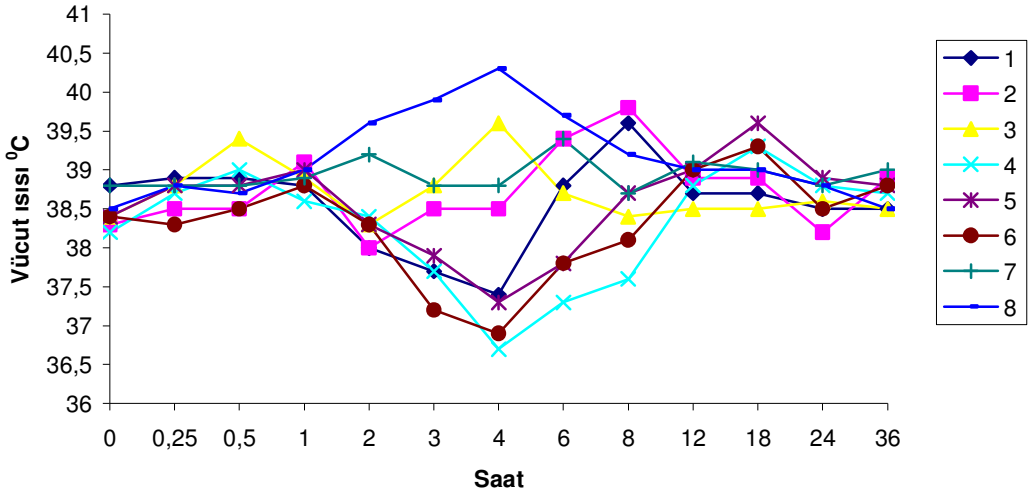
3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

LPS infüzyonu öncesi buzağıların ortalama vücut ısı 38.5°C iken LPS infüzyonu sonrasında zamanla vücut sıcaklıklarında değişiklikler gözlendi. İntravenöz LPS infüzyonunu takiben ilk 30-60 dk içerisinde hafif bir hipertermi (38,9 °C) daha sonrasında ise 4 buzağıda hipotermi (<38°C) gözlendi. Hipotermiyi takiben buzağılarda tekrar hipertermi (39,1°C) gelişti. (Grafik 3.1). Buzağıların hepsinin vücut sıcaklıkları 39°C'yi geçerken hipertermi gelişme zamanları arasında bireysel farklılıklar oluştu (Grafik 3.2). Buzağıların hepsinde vücut ısısı bifazik seyir göstermiştir. Buzağıların vücut ısılarında 36. saatten sonra büyük bir değişiklik olmaksızın başlangıç değerlerine yakın şekilde devam etti.

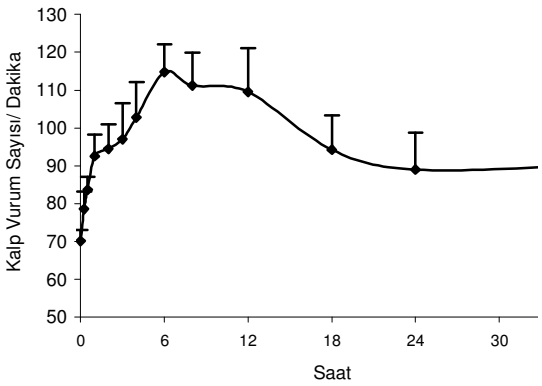


Grafik 3.1. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama vücut ısısının saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)

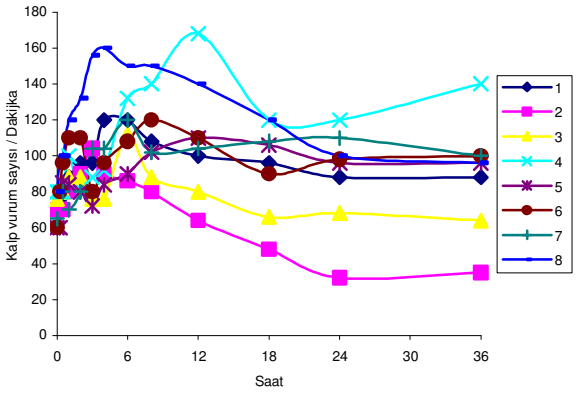


Grafik 3.2. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel vücut ısılarının saatlere göre değişim grafiği

Araştırma süresince buzağıların kalbin oskültasyonu yapılarak kalp atım sayısı ve ritmi değerlendirildi. Araştırma öncesi kalp atım sayısı ise 70-80/dk arasında değişirken, LPS infüzyonunu takiben zaman içerisinde (6-8 saat) tüm buzağılarda taşikardi gözlendi. Buzağıların ortalama kalp atım sayısı 6.saatte en üst seviyeye (115 vuru/dakika) ulaşırken, 36. saatten sonra ise başlangıç seviyelerine gerilemeye başladı (Grafik 3.3, 3.3A).

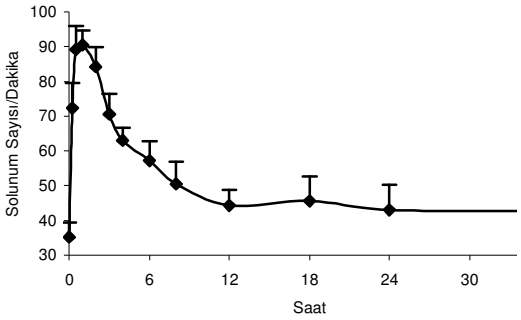


Grafik 3.3. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama kalp vurum sayısının saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)

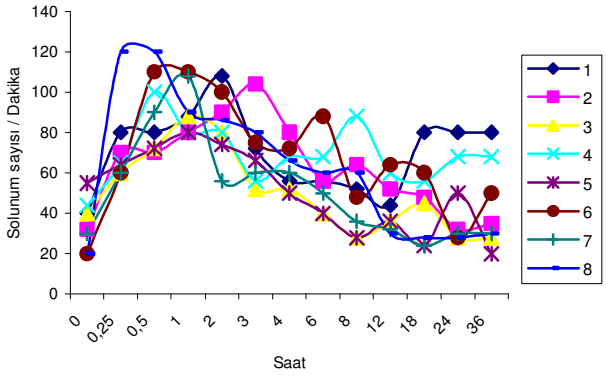


Grafik 3.3.A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel kalp vurum sayılarının saatlere göre değişim grafiği

Çalışma süresince buzağıların solunum sistemi muayenesinde solunum sayısı ve solunum tipi değerlendirildi. LPS infüzyonunu takiben solunum sayılarında değişiklikler gözlendi (Grafik 3.4, 3.4.A). Genelde solunumdaki değişiklikler çalışmanın ilk 30. dakikasında başlayarak 24. saate kadar devam etti. Yirmidördüncü saatten sonra ise buzağılarda normal solunum gözlendi.

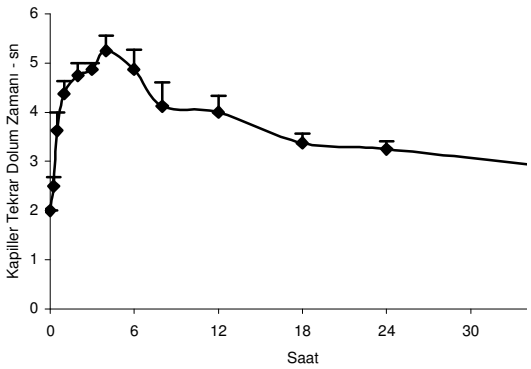


Grafik 3.4. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama solunum sayısının saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)

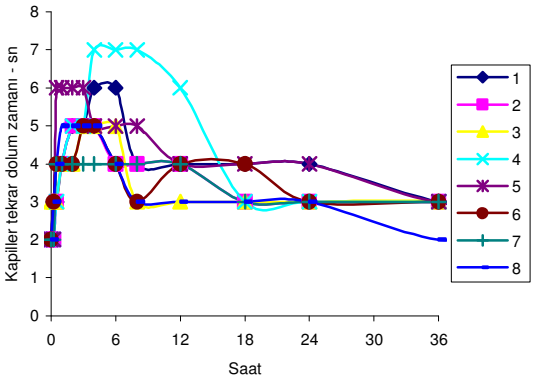


Grafik 3.4.A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel solunum sayılarının saatlere göre değişim grafiği

Çalışma süresince buzağılarda mukoza muayenesinde kapiller tekrar dolum zamanı (KTDZ) değişikliler tespit edildi. Başlangıçta 2-3 sn olarak ölçülen KTDZ, çalışmanın 1. saatinde artarak 6. saate kadar 5-6 sn seviyesine yükseldi. Daha sonra zamanla azalarak 24. saatte normal sınırlara düştü (Grafik 3.5, 5A) .



Grafik 3.5. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama kapillar tekrar dolum zamanının saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



Grafik 3.5.A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel kapiller takrar dolum zamanının saatlere göre değişim grafiği

Çalışma süresince solunum sistemi muayenesinde solunum şeklinde değişiklikler gözlendi. Hayvanların solunumları hafif, yüzeysel ve hızlı başlayıp, derin ve abdominal solunum tipine doğru geçiş görüldü. Bazı buzağılarda ise boynu uzatarak solunumu rahatlatma çabalarının yanı sıra salya artışı ve öksürük gözlendi (Grafik 3.6).

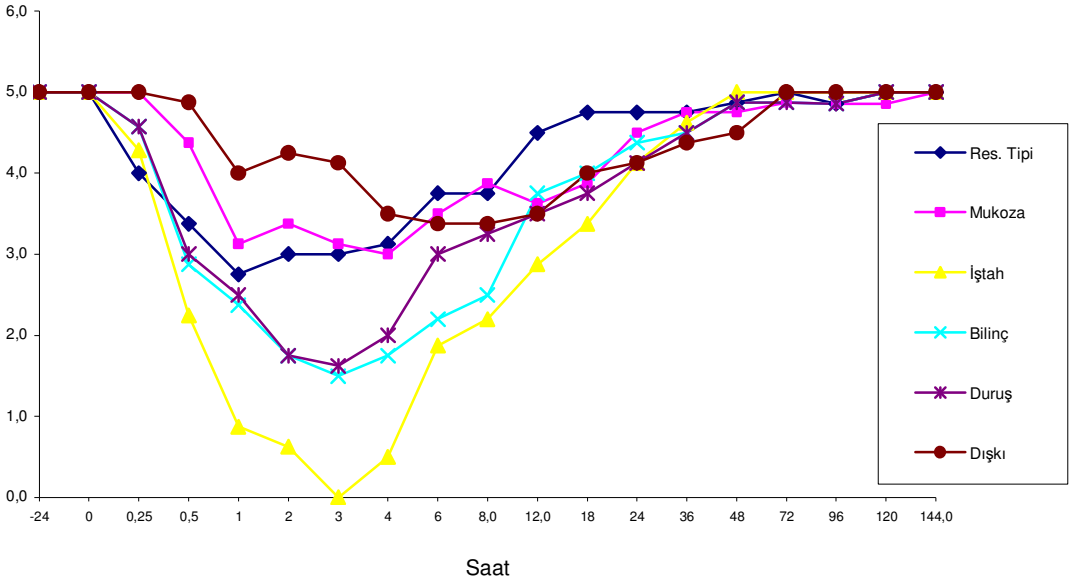
Çalışma süresince buzağıların ağız, göz mukozası ve konjüktivalarda değişiklikler tespit edildi. LPS infüzyonunu takiben mukozaların hiperemik, kirli hiperemik ve siyanotik bir halde olduğu gözlendi. İlk 30 – 60 dakika içerisinde mukozalar hiperemikken daha sonraki saatlerde kirli hiperemik, damarlarda dolgunlaşma ve siyanotik bir hal gözlendi. Mukozalarda bu değişiklikler genelde ilk 30 dakika içerisinde başlayarak 24. saate kadar devam etti (Grafik 3.6).

Çalışma süresince buzağıların iştahları takip edildi. Sindirim sisteminde oluşabilecek gazın önlenmesi için çalışma öncesi buzağılar 12 saat aç bırakıldı. Buzağılarda iştah, LPS infüzyonu sonrasında 30. dakikadan itibaren etkilendi. Buzağıların hepsinde 3. saatte iştah ve emme refleksleri tamamen kaybolurken, 8. saatten sonra iştah tekrar normalleşmeye başladı (Grafik 3.6).

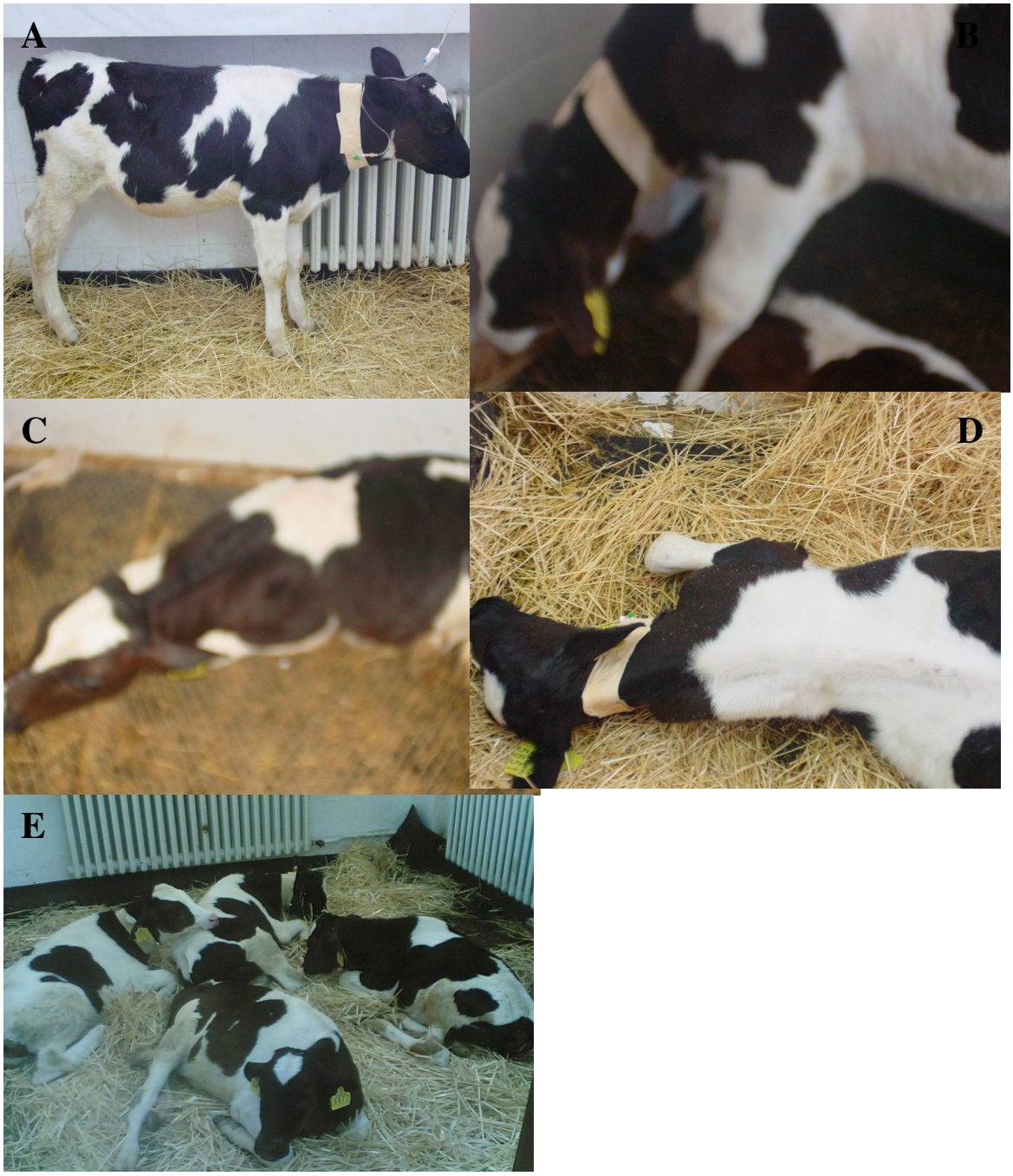
Çalışma süresince buzağıların mental yapıları ve bilinç durumlarında değişiklikler gözlendi. Tüm hayvanlarda belirgin şekilde refleks ve bilinç kaybı oluştu. Hafif refleks kaybından kısmi bilinç ve refleks kaybına kadar değişen semptomlar gözlendi. Özellikle 2 ila 4. saat civarında tüm hayvanlarda mental kayıpları vardı (Grafik 3.6).

Çalışma süresince buzağıların genel görünümleri ve ayakta durabilme yetenekleri değişkenlik göterdi. LPS infüzyonunu takiben hafif sallantılı yürüyüşten, yere yatıp kafayı kaldıramayacak dereceye kadar devam eden bulgular saptandı (Grafik 3.6).

Çalışma süresince LPS infüzyonunu takiben buzağıların dışkılama sayıları ve dışkı şekilleri de kontrol edildi. Tüm buzağılarda dışkı yapma sayıları ilk iki saat içerisinde artarken dışkı şekilleri de jöle şeklindeydi. Buzağılardan iki tanesinde 4. saatten sonra pis kokulu ishal şekillendi (Grafik 3.6).



Grafik 3.6. Ortalama solunum tipi, mukozal görünüm, iştah durumu, bilinç durumu, genel görünüş-duruş ve dışkı niteliğinin saatlere göre değişim grafiği



Resim 3.1. Endotoksemi oluşturulan buzağıların genel görünümleri

A) LPS'nin iv infüzyon şeklinde verilmesi

B) Ayaktayken solunumu rahatlatmak için başı öne doğru uzatması

C) Yerde yatış pozisyonundayken solunumu rahatlatmak için başı öne doğru uzatması

D) Yerde yatış pozisyonunda ve kısmi bilinç kaybının görünümü

E) LPS infüzyonu sonrası 24. saat klinik olarak normal görünüm

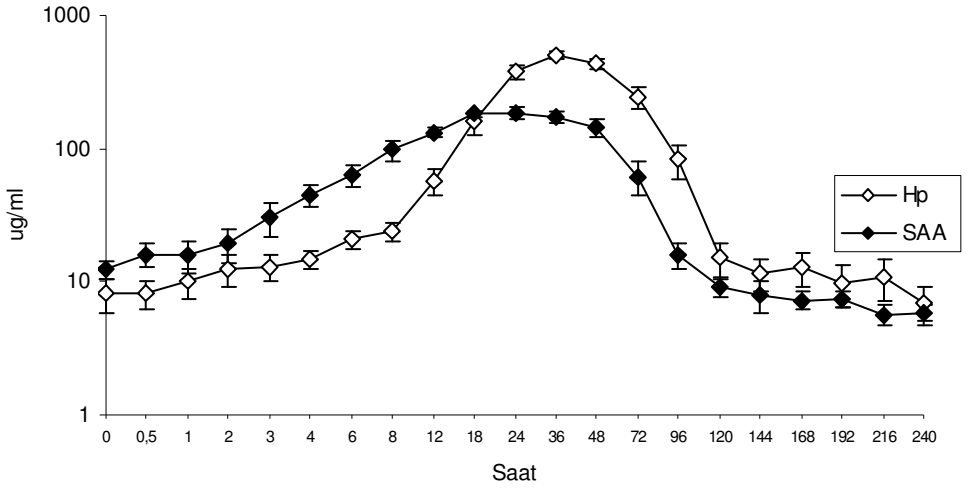
3.2. Laboratuar Bulguları

3.2.1. Haptoglobin

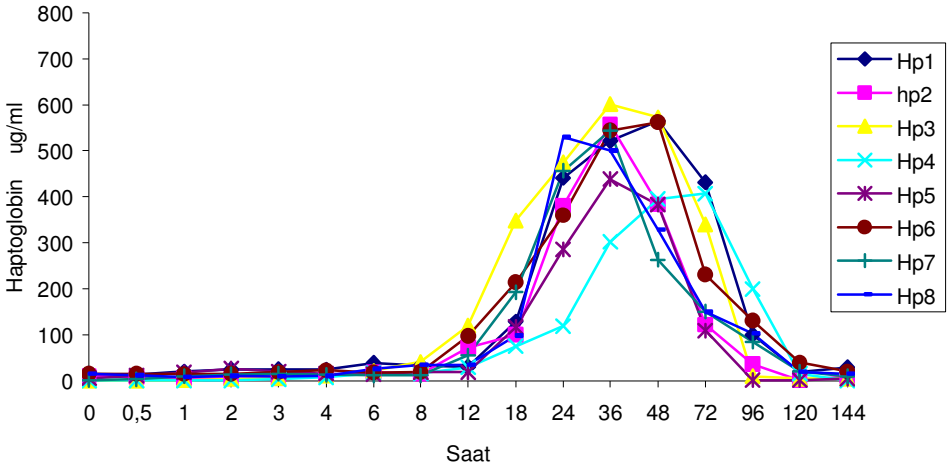
Buzağılara LPS uygulamadan önce 0. saatte ortalama Hp değeri 8,13µg/ml seviyesinde bulunurken 6. saatte 20,84µg/ml seviyesine ve 18. saatte ise 159,19µg/ml seviyesine yükselmiştir. Haptoglobinin ortalama maximum seviyesi 36. saatte 500,85 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Bu saatten sonra Hp seviyesi kademeli olarak azalmaya başladı ve çalışmanın 144. saatinde başlangıç seviyesine geriledi. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel Hp konsantrasyonunun değişimi Grafik 3.8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 ve 3.17'de, ortama Hp konsantrasyonunun değişimi ise Grafik 3.7 ve Tablo 3.1'de sunulmuştur.

3.2.2. Serum Amyloid-A

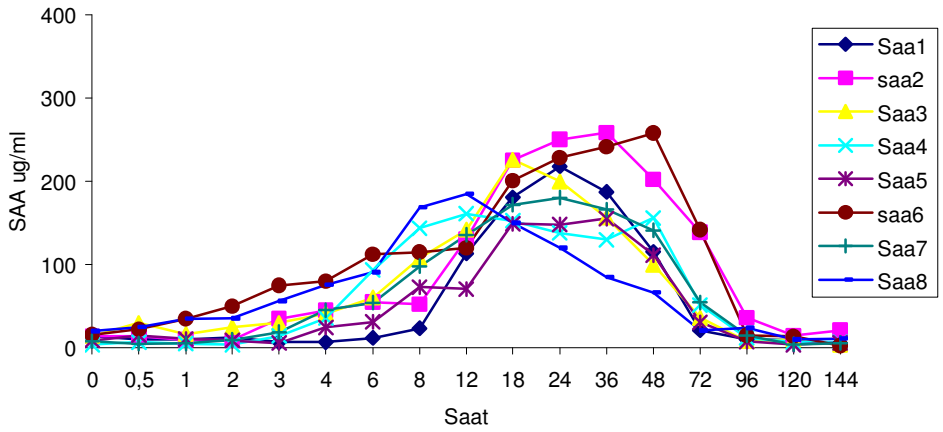
Buzağıların LPS infüzyonu öncesi ortalama SAA seviyesi 12,37 µg/ml iken LPS infüzyonunu takiben 3. saatte 30,22µg/ml seviyesine ve 8. saatte ise 97,79µg/ml değerine ulaşmıştır. Serum Amyloid A en üst seviyeye 24.saatte 185,27µg/ml değeri ile ulaşmıştır (Grafik 3.7, Tablo 3.1). Yalnız bir buzağıda (6 nolu) SAA seviyesi 48. saatte en üst seviyeye ulaşmıştır. Buzağıların genelinde SAA seviyesi 96. saatte başlangıç seviyesine düşmüştür. İki buzağıda ise SAA seviyesi 72. saatte başlangıç seviyesine ulaşmıştır. LPS infüzyonunu takiben bireysel SAA konsantrasyonlarının değişimi Grafik 3.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 ve 3.17'de, ortalama SAA konsantrasyonunun değişimi ise Grafik 3.7 ve Tablo 3.1'de sunulmuştur.



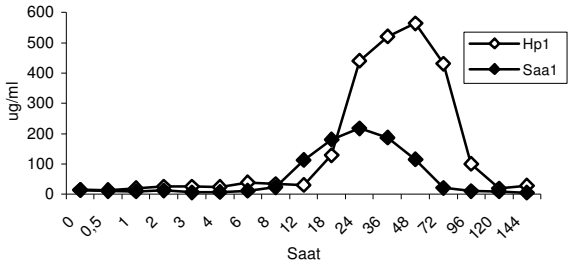
Grafik 3.7. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama Haptoglobin ve Serum Amiloid A'nın saatlere göre değişim grafiği ($log_{10,}$ Ortalama ±SE)



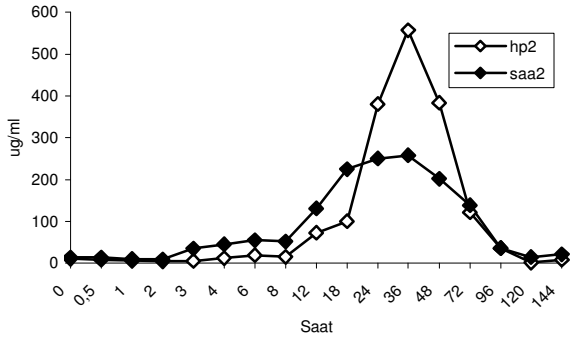
Grafik 3.8. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel Haptoglobin değerlerinin saatlere göre değişim grafiği



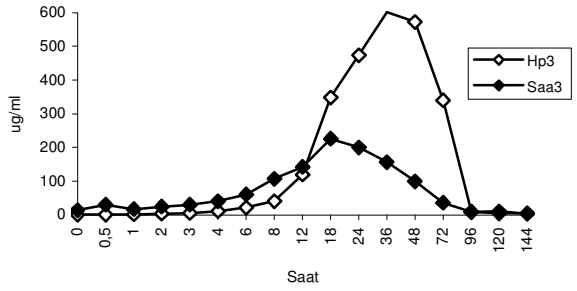
Grafik 3.9. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel SAA değerlerinin saatlere göre değişim grafiği



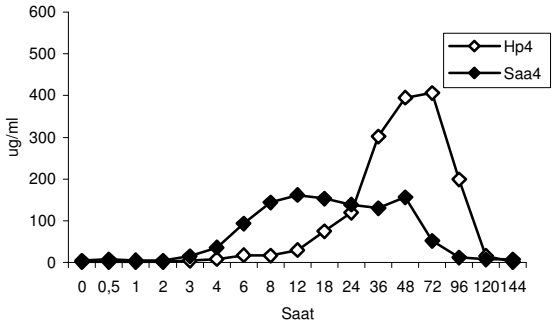
Grafik 3.10. LPS infüzyonunu takiben 1 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği



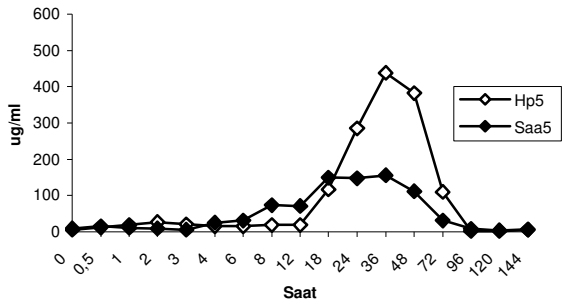
Grafik 3.11. LPS infüzyonunu takiben 2 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği



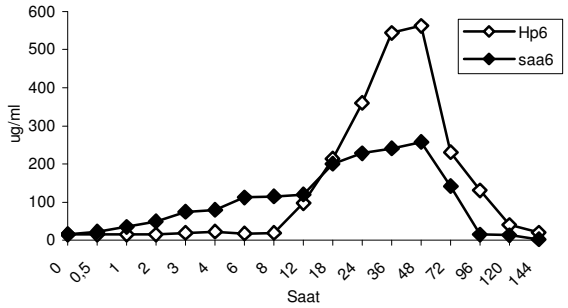
Grafik 3.12. LPS infüzyonunu takiben 3 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği



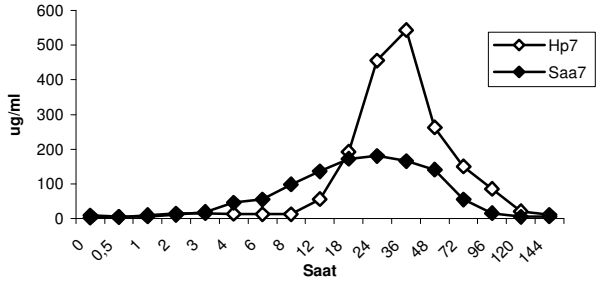
Grafik 3.13. LPS infüzyonunu takiben 4 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği



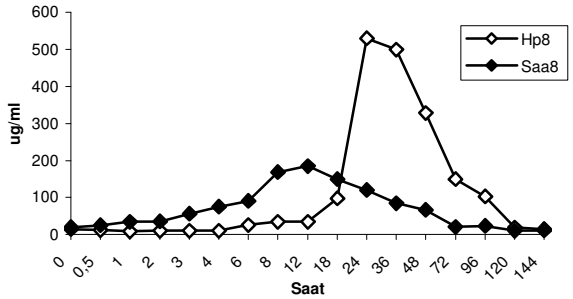
Grafik 3.14. LPS infüzyonunu takiben 5 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği



Grafik 3.15. LPS infüzyonunu takiben 6 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği



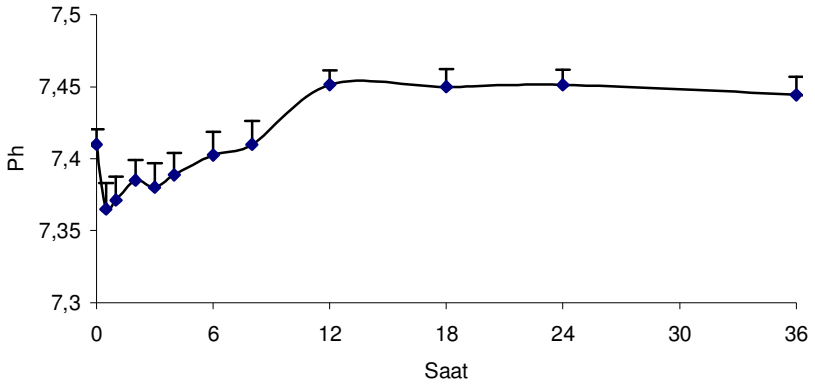
Grafik 3.16. LPS infüzyonunu takiben 7 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği



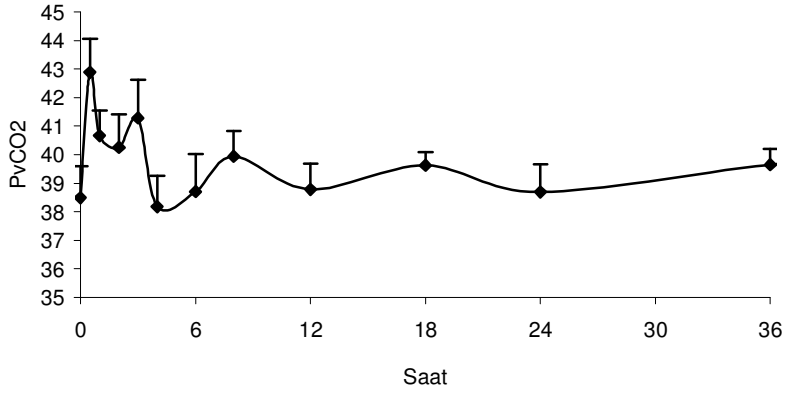
Grafik 3.17. LPS infüzyonunu takiben 8 numaralı buzağının Hp ve SAA değerinin saatlere göre değişim grafiği

3.2.3. Hemogram ve kangazı

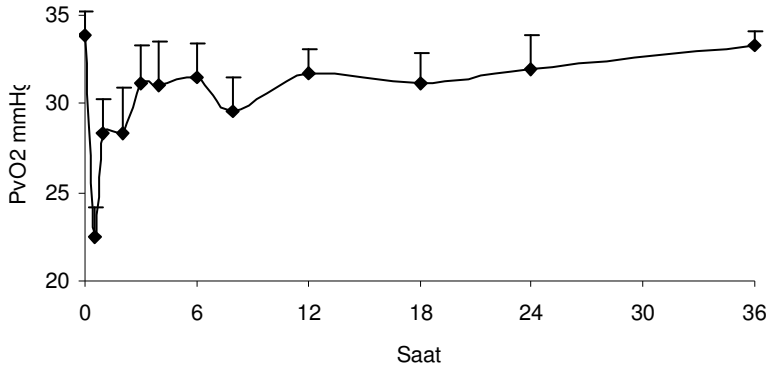
LPS infüzyonunu takiben ortalama venöz kan pH değeri başlangıç seviyesine göre 30. dakikada düşüş gösterirken, 3. saatten sonra başlangıç seviyesine yükseldi (Grafik 3.18). P_vCO_2 değeri LPS infüzyonunu sonrası 30. dakikada yükselme gösterirken 3. saatten sonra başlangıç seviyesine yükseldi (Grafik 3.19). LPS infuzyonu sonrası P_vO_2 değerinde 30. dakikada başlagıç değerine göre düşüş olurken 3. saatten sonra tekrar başlangıç seviyesine yükselmiştir (Grafik 3.20). Buzağılardan başlangıç ve LPS uygulamasını takiben alınan kan örneklerinden ölçülen pH, P_vCO_2, P_vO_2, BE, değerlerinin saatlere göre değişimi sırasıyla Grafik 3.18, 3.19, 3.20 ve 3.21'de gösterilmiştir. Ayrıca ortalama pH, P_vCO_2, P_vO_2, Na, K, Cl, HCO_{3std}, BE, Angap, O_2 sat, RBC, HCT ve HGB değerleri Tablo 3.2'de sunulmuştur.



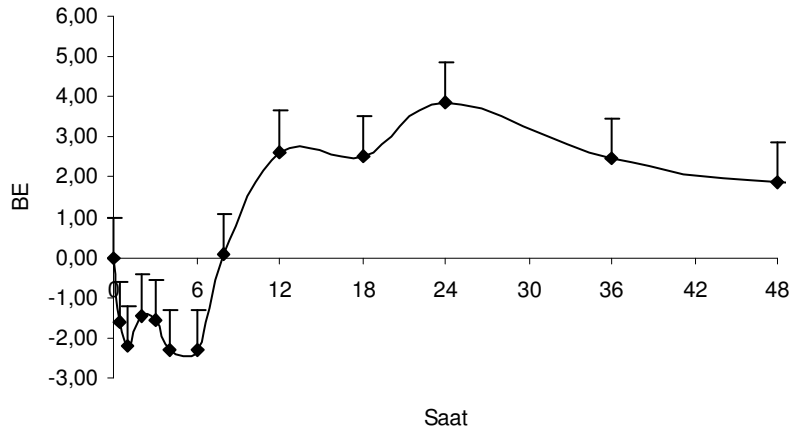
Grafik 3.18. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama kan Ph değerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



Grafik 3.19. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama P_vCO_2 değerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)

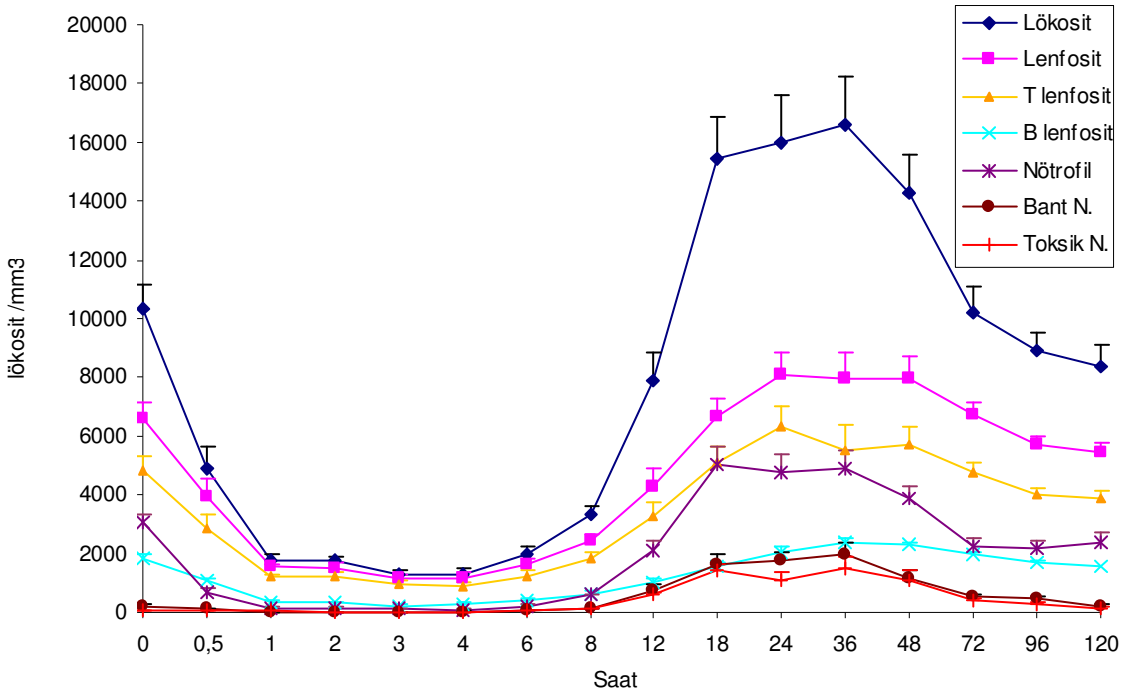


Grafik 3.20. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama PvO_2 değerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)

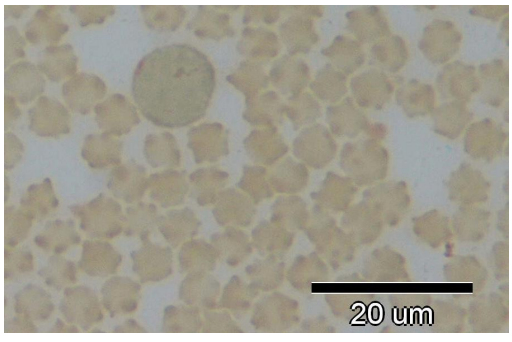


Grafik 3.21. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama BE değerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)

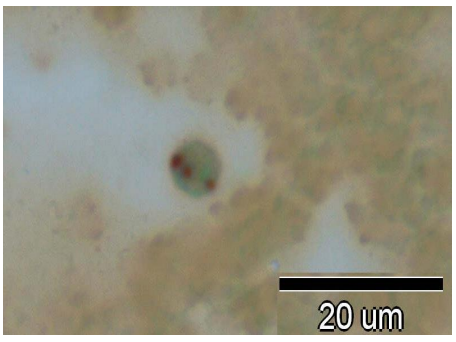
LPS uygulamasını takiben total lökosit sayısında başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan azalma 8. saatte kadar devam etmiş ve bu saatten itibaren yükselmeye başlamıştır. 12. saatten sonra ise lökositozis gözlenmiş ve 72. saatte başlangıç sayısına dönmüştür (Grafik 3.22). Total lökosit, lenfosit, T lenfosit, B lenfosit, nötrofil, bant nötrofil ve toksik nötrofil sayılarının saatlere göre değişimleri Tablo 3.3'te sunulmuştur.



Grafik 3.22. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama total lökosit, lenfosit, T lenfosit, B lenfosit, nötrofil, bant nötrofil, toksik nötrofil sayılarının saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



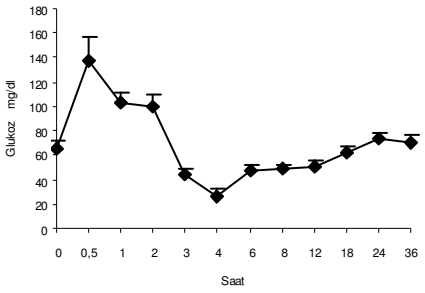
Resim 3.2. ANAE negatif lenfositin görünümü (B lenfosit)



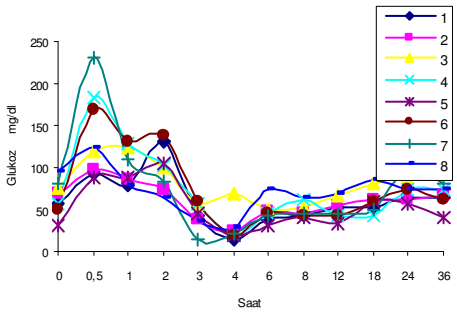
Resim 3.3. ANAE pozitif lenfositin görünümü (T lenfosit)

3.2.4. Biyokimyasal parametreler

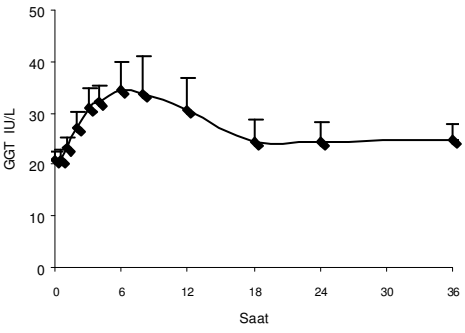
LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama total protein, albumin, globulin, total bilirubin, glukoz, LDH, GGT, AST, ALP, ALT, BUN, kreatinin değerleri ve istatistiksel önemleri Tablo 3.1'de belirtilmiştir. Ortalama ve bireysel glukoz, GGT, AST, ALP, total bilirubin, total protein, albumin, globulin, BUN, kreatinin zamana göre değişimleri sırasıyla Grafik 3.23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ve 3.30'da sunulmuştur.



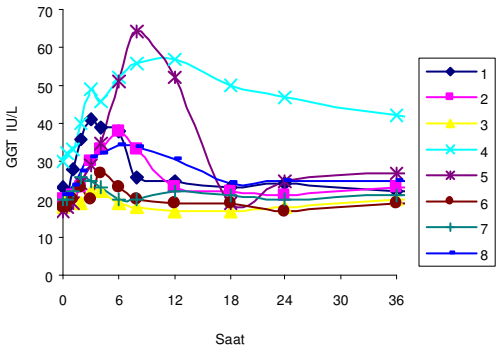
Grafik 3.23. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama glukoz konsantrasyonun saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



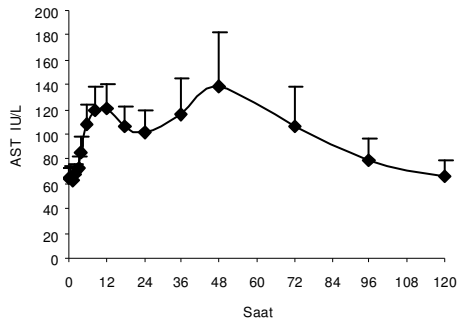
Grafik 3.23A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel glukoz konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği



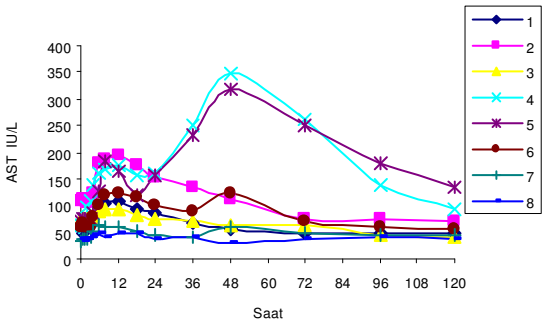
Grafik 3.24. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama GGT konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği (Mean ± SE)



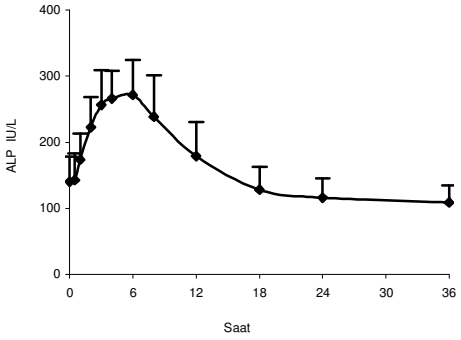
Grafik 3.24A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel GGT konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği



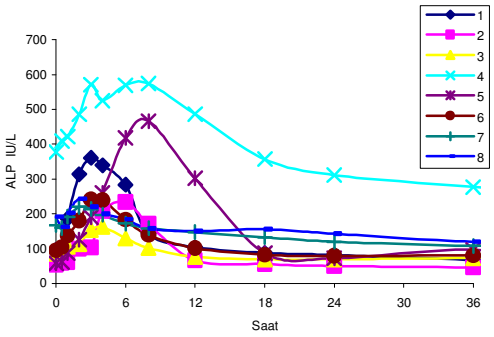
Grafik 3.25. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama AST konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



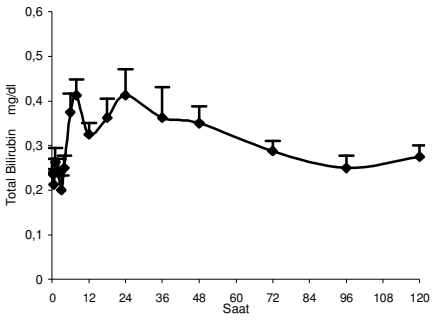
Grafik 3.25A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel AST konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği



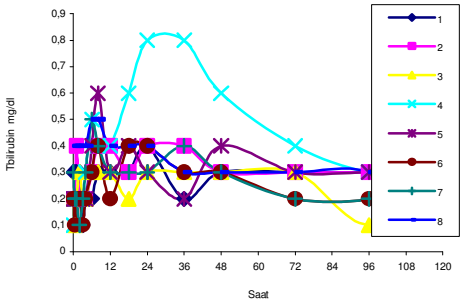
Grafik 3.26. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama ALP konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



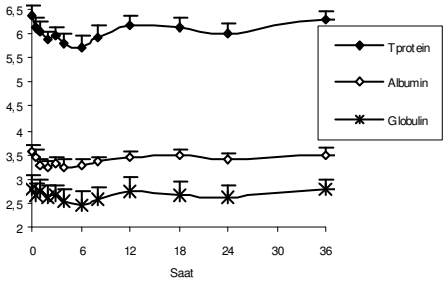
Grafik 3.26A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel ALP konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği



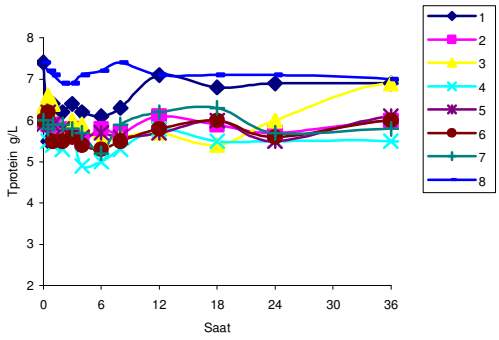
Grafik 3.27. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama total bilirubin konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



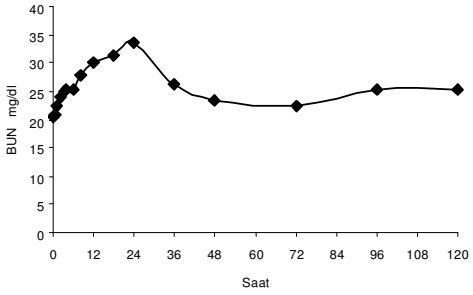
Grafik 3.27A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel total bilirubin konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği



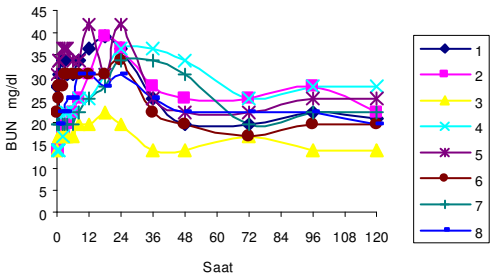
Grafik 3.28. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama total protein, albumin, globulin değerlerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



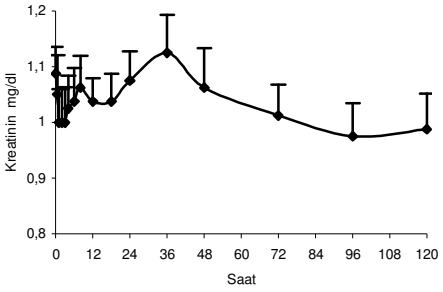
Grafik 3.28A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel total protein konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği



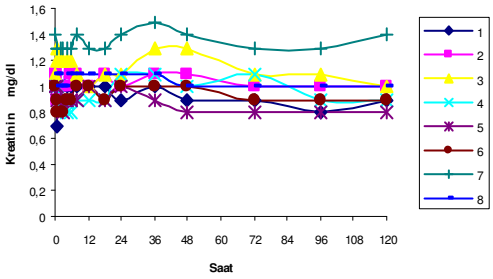
Grafik 3.29. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama BUN değerinin saatlere göre değişim grafiği (Mean ± SE)



Grafik 3.29A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel BUN konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği

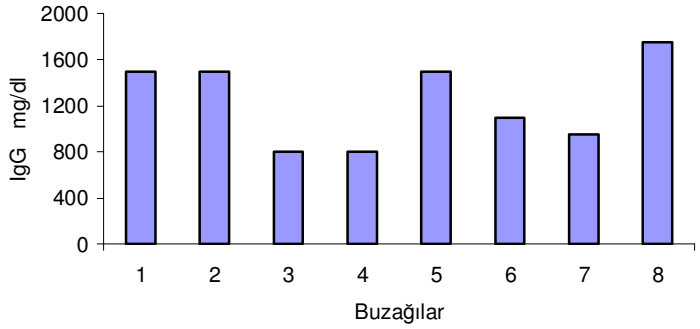


Grafik 3.30. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama kreatinin değerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



Grafik 3.30A. LPS infüzyonunu takiben buzağıların bireysel kreatinin konsantrasyonunun saatlere göre değişim grafiği

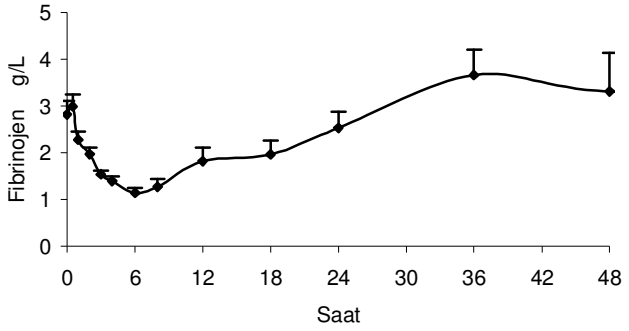
Çalışma öncesinde buzağıların bağışıklık sistemi kontrolü için alınan kan örneklerinden IgG konsantrasyonları ölçüldü. Her bir buzağının IgG değerleri Grafik.3.31'de belirtilmiştir.



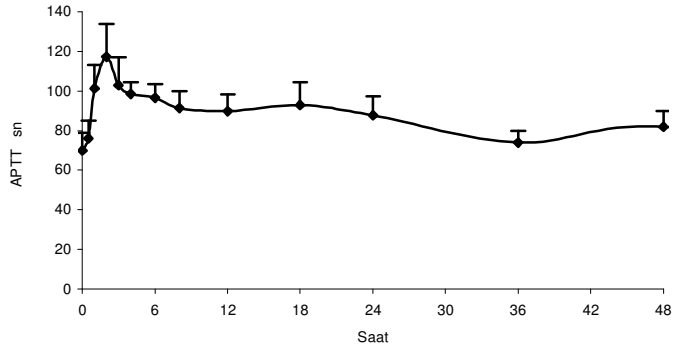
Grafik 3.31. Çalışma öncesi buzağıların bireysel IgG seviyeleri

3.2.5. Koagulasyon parametreleri

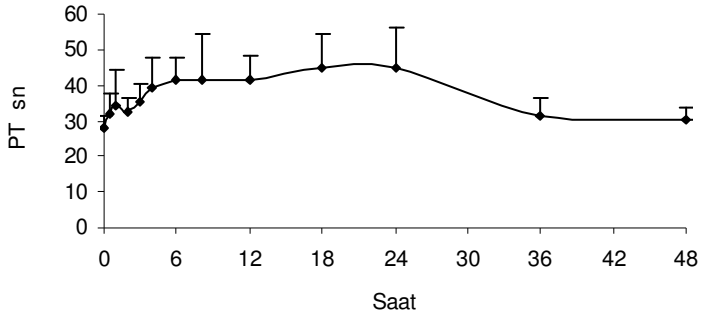
LPS infüzyonu sonrasında fibrinojen seviyesi 30. dakikadan 6. saate kadar düşüş gösterirken 6. saatten sonra başlangıç seviyesine doğru yükselmiştir. APTT değeri ise 30. dakikadan itibaren etkilenerek 2. saate kadar yükselmiş ve 2. saatten sonra düşüş eğilimi göstermiştir. Koagulasyon parametrelerinin ortalama Fibrinojen, APTT, PT ve PLT değerleri ve istatistiksel önemlilikleri Tablo 3.1'te, bu parametrelerin zamana göre değişimleri Grafik 3.22, 3.23, 3.24 ve 3.25'te sunulmuştur.



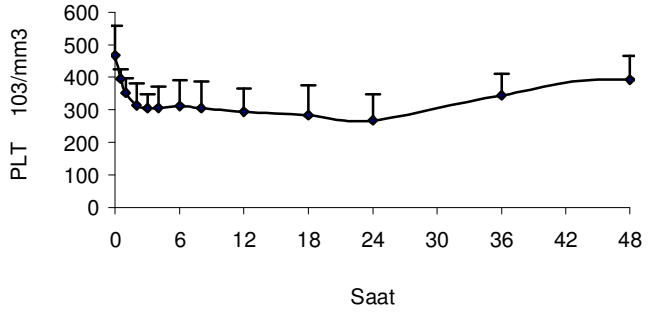
Grafik 3.32. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama fibrinojenin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



Grafik 3.33. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama APTT değerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



Grafik 3.34. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama PT değerinin saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)



Grafik 3.35. LPS infüzyonunu takiben buzağıların ortalama PLT sayısının saatlere göre değişim grafiği (Ortalama ±SE)

Haptoglobin konsantrasyonundaki artış ile klinik bulguların düzelmesi arasında pozitif yönde bir korelasyonun varlığı tespit edilirken, SAA bu yönden haptoglobine göre daha zayıf bir korelasyon göstermiştir. Yine Hp konsantrasyonu ile total WBC, lenfosit (T-B lenfosit), nötrofil, sayıları arasında pozitif korelasyon, SAA ile total WBC, lenfosit (T-B lenfosit), nötrofil arasında ise daha zayıf bir korelasyon saptanmıştır. Karaciğer enzimleri (GGT, AST, ALP, ALT, LDH) ile Hp ve SAA arasında bir korelasyon bulunamazken karaciğer enzimlerinin kendi aralarında pozitif yönlü korelasyona sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. Hp, SAA, Biyokimyasal ve koagulasyon değerlerinin LPS infüzyonunu takiben 0. ve 144. saatler arasındaki değerleri (Ortalama ±SE)

Değer/Zaman	0	0,5	1	2	3	4	6	8	12	18	24	36	48	72	96	120	144
Hp µg/ml	8,13±2,30	8,17±1,99	9,94±2,54	12,55±3,32	12,91±2,84	14,68±2,12	20,84±2,97	23,95±3,84	57,17± 12,83	159,19± 31,94 ***	380,70± 45,96 ***	500,85± 32,95 ***	431,33± 42,21 ***	242,36± 46,68 ***	83,16± 23,42	15,23±4,52	11,76±7,96
SAA µg/ml	12,37±1,83	16,06±3,18	15,88±4,37	19,27±5,69	30,22±8,70	44,27±8,57	63,61± 11,76	97,79± 16,76 ***	132,35± 11,95 ***	182,01± 11,34 ***	185,27± 16,50 ***	172,36± 19,96 ***	143,68± 21,66 ***	61,77± 17,63	15,98±3,39	9,07±1,41	7,91±2,08
Tbilirubin mg/dl	0,24±0,03	0,21±0,04	0,26±0,03	0,24±0,03	0,20±0,03	0,25±0,0,	0,38±0,04	0,41±0,04	0,33±0,03	0,36±0,04	0,41±0,06	0,36±0,07	0,35±0,04	0,29±0,02	0,25±0,03	0,28±0,03	
GLU mg/dl	65,13±7,20	138,25± 18,06 ***	102,50±8,11*	99,75±9,24	43,88±5,26	26,63±6,11 *	47,25±4,32	49,63±3,08	51,13±4,45	61,50±5,37	74,13±5,12	70,75±6,21	77,63±5,12	79,25±4,73	81,13±3,39	89,63±6,97	
LDH IU/L	750±69	753±73	743±70	722±67	754±77	760±75	837±96	917±110	991±126	965±115	939±126	1029±188	1017±191	910±147	854±110	802±87	
TP g/L	6,36±0,23	6,11±0,20	6,06±0,20	5,88±0,17	5,96±0,16	5,79±0,23	5,73±0,24	5,91±0,24	6,19±0,21	6,13±0,21	6,00±0,23	6,28±0,20	6,09±0,19	5,90±0,21	5,98±0,21	5,83±0,16	
GGT IU/L	20,86±1,70	20,86±1,90	23,43±1,94	27,29±2,91	30,86±3,98	32,14±3,31	34,43±5,31	33,86±7,07	30,71±6,24	24,43±4,33	24,57±3,90	24,86±3,02	23,86±2,87	22,57±3,14	22,00±2,56	21,29±2,22	
AST IU/L	64,00±8,36	64,75±9,17	63,38±8,49	67,25±8,79	73,00±9,78	86,13± 11,53	107,88± 16,15	119,38± 1940	121,00± 18,87	106,25± 16,08	101,25± 17,60	115,63± 29,31	139,38± 43,67	106,00± 32,64	78,50± 18,27	66,50± 11,86	
ALP IU/L	140±38	143±40	174±40	223±46	257±52	266±42	272±53	239±63	179±51	128±35	116±30	109±25	99±22	91±25	107±22	115±25	
ALB g/L	3,58±0,13	3,44±0,17	3,30±0,12	3,24±0,12	3,31±0,13	3,25±0,14	3,28±0,14	3,35±0,11	3,45±0,12	3,48±0,14	3,40±0,12	3,50±0,16	3,41±0,14	3,36±0,10	3,38±0,11	3,31±0,14	
GLB g/L	2,79±0,27	2,68±0,24	2,76±0,24	2,64±0,24	2,65±,24	2,54±,26	2,45±,30	2,56±,28	2,74±,28	2,65±,28	2,60±0,26	2,78±0,22	2,68±0,22	2,54±0,25	2,60±0,22	2,51±0,20	
ALT IU/L	22,50±3,75	22,00±3,76	21,25±3,72	21,13±3,38	20,88±3,44	21,38±3,39	22,00±3,48	21,88±3,38	22,50±3,55	23,38±3,49	23,88±3,75	25,25±4,38	27,25±5,42	26,00±5,16	25,38±4,84	23,00±4,10	
BUN mg/dl	20,35±2,30	20,70±2,31	22,45±2,70	23,86±2,81	24,91±2,73	25,26±2,43	25,26±2,12	27,71±1,87	30,17±2,47	31,22±2,02	33,68±2,31 *	26,31±2,43	23,50±2,25	22,45±3,08	25,25±2,54	25,25±1,67	
CRE mg/dl	1,09±0,05	1,05±0,07	1,00±0,06	1,00±0,06	1,00±0,06	1,03±0,06	1,04±0,06	1,06±0,06	1,04±0,04	1,04±0,05	1,08±0,05	1,13±0,07	1,06±0,07	1,01±0,05	0,98±0,06	0,99±0,06	
PT sn	28,18±1,17	32,14±1,99	34,41±3,5	32,7±1,28	35,46±1,6	38,99±3,38	41,24±2,31*	41,78±4,38*	41,63±2,3*	44,89±3,64**	45,05±3,85**	31,61±1,86	30,41±1,15	27,79±1,90	28,93±2,12		
APTT sn	70±9	76±8	101±11	117±16*	103±13	98±5	96±7	91±9	90±9	93±12	88±9	74±6	81±8	62±6	53±4		
FİBR g/L	2,81±0,29	2,99±0,26	2,28±0,17	1,96±014	1,54±0,21	1,38±0,10	1,14±0,10	1,27±0,17	1,81±0,29	1,96±0,30	2,53±0,35	3,66±0,54	3,31±0,82	3,34±0,34	2,97±0,78		
PLT/mm^3	466±45	395±14**	352±20**	314±33**	305±17**	305±23**	311±32**	305±33**	293±29**	283±32**	267±35**	344±33**	392±36	410±25*	414±26		

Tablo 3.2. Kangazı değerleri, vücut ısısı, KTDZ, kalp vurum sayısı ve solunum sayısının LPS infüzyonunu takiben 0. ve 120. saatler arasındaki değerleri (Ortalama ±SE)

Değer/Zaman	0	0,5	1	2	3	4	6	8	12	18	24	36	48	72	96	120
Ph	7,41±0,01	7,36±0,02	7,37±0,02	7,38±0,01	7,38±0,02	7,39±0,02	7,40±0,02	7,41±0,02	7,45±0,01	7,45±0,01	7,45±0,01	7,44±0,01	7,43±0,02	7,43±0,02	7,44±0,01	7,43±0,01
P_vCO_2 mmHg	38,48±1,1	42,88±1,18	240,66±0,90	40,25±1,70	41,28±1,35	38,17±1,07	38,7±1,32	39,93±0,89	38,79±0,90	39,62±0,45	38,69±0,97	39,±0,57	40,4±0,41	40,10±1,55	39,40±0,92	40,1±0,73
P_vO_2 mmHg	33,84±1,42	22,49±1,67**	28,31±1,97	28,38±2,52	31,20±2,11	31,01±2,53	31,48±1,93	29,54±1,92	31,69±1,37	31,21±1,70	31,90±1,99	33,26±0,85	30,11±1,49	31,68±1,52	31,11±1,56	31,64±1,87
Na mEq/L	145,63±1,48	144,00±2,24	147,13±2,24	147,00±1,63	150,43±1,74	148,50±1,95	148,38±2,58	148,75±2,12	147,71±2,00	146,25±1,84	144,63±1,07	143,86±1,64	144,13±1,38	147,25±1,75	147,88±1,77	148,00±1,48
K mEq/L	3,52±0,16	4,22±0,16	3,63±0,11	3,49±0,13	3,26±0,15	3,42±0,16	3,38±0,25	3,33±0,24	2,90±0,12	2,96±0,32	3,14±0,16	3,26±0,15	3,31±0,15	3,36±0,23	3,46±0,16	3,56+0,13
Cl mEq/L	105,88±1,74	104,13±2,20	105,63±1,71	106,75±1,19	108,00±1,53	107,50±2,05	107,00±1,88	105,29±1,87	107,00±1,26	105,40±1,50	103,83±3,05	106,00±2,47	104,00±1,49	104,75±1,44	105,13±1,17	106,88±1,04
HCO_3 mEq/L	24,55±0,80	23,76±1,07	22,44±1,18	23,53±0,71	23,24±0,51	21,60±0,90	22,76±0,89	25,38±0,91	26,50±0,59	27,33±0,69	26,50±1,23	27,09±1,28	27,14±0,96	25,99±1,04	26,14±1,03	26,65±0,67
BE mEq/L	0,01±0,70	-1,64±1,18	-2,55±1,23	-1,34±0,70	-1,66±0,56	-2,83±0,89	-1,51±0,83	0,70±0,99	2,56±0,60	3,14±0,78	2,56±1,12	2,87±1,31	2,61±1,15	1,60±1,19	1,94±1,11	2,41±0,59
Angap mEq/L	18,79±0,88	20,56±1,06	22,66±1,81	19,98±0,70	22,66±0,71	22,69±0,97	21,75±1,49	19,41±1,22	19,06±1,15	18,40±2,12	19,53±2,30	15,44±1,06	16,13±0,76	19,90±1,39	21,73±1,42	18,04±0,61
O_2 sat %	65,11±3,08	36,81±4,57**	47,09±6,99	51,38±6,26	57,66±5,22	57,20±5,73	59,99±4,90	55,86±4,53	63,40±3,05	62,16±4,05	63,43±4,87	66,29±1,86	58,78±3,98	61,93±4,37	61,95±3,58	62,33±4,04
RBC adet/mm^3	7542500± 649678	9294286± 818526	8751250± 727860	8325714± 675929	8487143± 660702	7851428± 710862	8302857± 889006	8138571± 826496	8395000± 845401	8426667± 991499	7921666± 748564	7028571± 1218069	8131429± 974922	7471429± 779005	7998750± 704114	8221429± 796093
Hct %	26,28±1,59	31,27±1,71	30,23±1,95	28,15±1,42	30,14±1,69	27,97±1,89	28,60±1,78	28,92±1,76	30,40±1,39	30,44±1,9	28,12±1,10	29,46±1,80	28,45±2,20	25,67±1,61	26,47±1,60	28,05±0,82
Hgb g/dl	10,39±0,45	11,79±0,62	11,51±0,76	10,50±0,51	11,63±0,46	10,90±0,50	10,66±0,40	10,45±0,40	11,24±0,49	11,01±0,42	10,09±0,55	10,41±0,54	9,91±0,42	9,44±0,30	9,58±0,32	9,18±0,30
	0	0,25	0,5	1	2	3	4	6	8	12	18	24	36			
T ^0C	38,48±0,08	38,70±0,08	38,83±0,10	38,89±0,06	38,51±0,14	38,31±0,28	38,19±0,39	38,61±0,35	38,76±0,27	38,88±0,08	39,04±0,17	38,64±0,09	38,71±0,10			
CFT sn	2,13±0,13	2,5±0,19	3,63±0,38**	4,38±0,26***	4,75±0,25***	4,88±0,13***	5,25±0,31***	4,88±0,4***	4,13±0,48***	4±0,33***	3,38±0,18	3,25±0,16	2,88±0,13			
N vuru/dakika	70,13±2,87	78,57±4,59	83,63±3,48	92,50±5,82	94,50±6,47	97,00±9,46	102,75±9,42	114,75±7,43*	111,25±8,56*	109,50±11,51*	94,25±9,07	89,00±9,77	89,88±10,75			
R adet/dakika	35,13±4,26	72,38±7,22**	89,25±6,74***	90,5±4,29***	84,25±5,65***	70,63±5,85**	63±3,67	57,25±5,54	50,5±6,39	44,25±4,61	45,63±7,01	43±7,33	42,63±7,56			

Tablo 3.3. Hemogram değerlerinin LPS infüzyonunu takiben 0. ve 120. saatler arasındaki ortalama sayıları (Ortalama ±SE)

Değer/Zaman	0	0,5	1	2	3	4	6	8	12	18	24	36	48	72	96	120
WBC adet/mm^3	10363±786	4925±746 **	1800±144 ***	1750±164 ***	1300±152 ***	1300±210 ***	1975±275 ***	3338±298 ***	7888±964	15413±1473 *	15963±1641 **	16588±1642 ***	14313±1281	10225±865	8938±589	8388±723
Lenfosit	6620±535	3941±612 **	1546±113 ***	1528±152 ***	1148±154 ***	1124±208 ***	1603±248 ***	2422±229 ***	4313±564	6637±620	8099±776	7940±931	7987±733	6738±437	5704±281	5439±349
T lenfosit	4804± 425	2840± 404 *	1193± 89 ***	1210± 117 ***	922± 125 ***	862± 154 ***	1199± 175 ***	1843±159 ***	3283± 387	5090± 387	6310± 708	5540± 782	5705± 558	4753± 329	4028± 181	3878± 257
B lenf.	1815± 139	1100± 211	351± 32 ***	317± 38 ***	226± 32 ***	261± 55 ***	403± 75***	578± 79 ***	1029± 195*	1546±163	2021± 225	2399± 251	2281± 195	1984± 162	1675± 101	1561± 100
Nötrofil	3054±299	711±111 ***	166±44***	159±21 ***	104±11***	96±17***	223±24***	581±55***	2120±349	5060±604 ***	4754±607 ***	4925±560 ***	3880±428	2263±238	2200±231	2406±291
Bant	236± 46	103± 21	26± 5	23± 2	17± 2	30± 4	63± 11	131± 26	781± 177	1619± 365 **	1745± 297 *	1975± 426 **	1175± 219	517± 123	1364± 969	210± 81
Toksik	60± 26	63± 8	39± 15	23± 11	19± 2	28± 5	55± 12	122± 23	587± 126	1397± 226 ***	1100± 252 **	1481± 424 ***	1097± 316 **	376± 96	290± 75	139± 50
Euzinofil	174± 45	60± 7	20± 8	11± 4	9± 3	18± 4	25± 6	51± 12	81± 22	152± 33	153± 46	165± 61	121± 33	86± 23	104± 19	191± 10
Monosit	75± 23	18± 10	4± 3	9± 4	6± 3	3± 2	6± 4	12± 6	22± 14	61± 31	102± 51	83± 43	203± 167	43±17	79± 34	143±26

* : $p<0,05$

** : $p<0,01$

*** : $p<0,001$

4.TARTIŞMA

Lipopolisakkarid ile deneysel oluşturulan endotoksemi çalışmalarında pek çok araştırıcı çeşitli klinik ve biyokimyasal parametreleri kullanarak endotokseminin belirtilerini, şiddetini ve seyrini araştırmışlardır (Griel 1975, Morris 1986, Lohuis ve ark 1988a, Boosman ve ark 1989, Kenison ve ark 1991, Gerros ve ark 1995, Horadagoda ve ark 2001, Oikawa ve Yamaoka 2003, Jacopsen ve ark 2005a). Gram negatif sepsisin ve endotokseminin sığırlarda özellikle de neonatal dönemdeki buzağılarda mortalite ile kuvvetli ilişkisi vardır (Deldar ve ark 1984, Morris ve ark 1986, Gerros ve ark 1993, Semrad ve Dubeilzig 1993, Gerros ve ark 1995). LPS ile deneysel oluşturulan endotoksemi durumlarında meydana gelen metabolik, hematolojik ve patolojik değişikler, doğal oluşan sepsis vakalarının sonuçları ile benzerlik gösterdiği çeşitli araştırıcılar tarafından belirtilmiştir (Rhoades ve ark 1967, Templeton ve ark 1988, Gerros ve ark 1995, Biniek ve ark 1998, Horadagoda ve ark 2001, Elsasser ve ark 2005). Sığırlarda deneysel endotoksemi oluşturabilmek için kullanılan LPS dozlarında çeşitli farklılıklar gözlenmektedir. Jacopsen ve ark (2004) deneysel endotoksemi (10, 100, 1000 ng/kg iv LPS) oluşturdukları sığırlarda en düşük dozda (10 ng/kg) bile akut faz cevabın oluştuğunu bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada 0,1µg/kg dozda IV yolla LPS uygulanarak buzağılarda deneysel endotoksemi oluşturuldu. LPS uygulanmasını takiben buzağılarda; iştahsızlık, emme refleks kaybı, sternum üzerine yatış, başı öne uzatma, şiddetli solunum güçlüğü, öksürük, salya, mental kayıp, KTDZ'nda uzama ve mukoz membranlarda patolojik değişiklikler (siyanoz) gibi klinik bulgular gözlenmiştir (Grafik 3.6). Klinik ve laboratuar sonuçlar doğrultusunda 0,1µg/kg dozda LPS'nin intravenöz uygulanmasının buzağılarda endotoksemiyi oluşturduğu ve bu dozda LPS uygulamalarının endotoksemi için iyi bir model olabileceği sunulan bu araştırmada da ortaya konmuştur.

4.1. Klinik bulgular

Lohuis ve ark (1988a) hayvan türlerinde endotoksinin patofizyolojik etkilerinin doza bağlı olduğunu belirtmiş ve endotoksinin oluşturduğu klinik belirtilerinin; genel depresyon, solunum stresi, vazomotor sistem bozuklukları (sonucunda şok), yüksek ateş (bazen hipotermi takip eder), gastrointestinal sistem motilite bozuklukları (öğürme ve diyare) olduğunu ifade etmiştir. Aynı araştırıcılar

vücut ısısının endotoksinin uygulanmasını takiben artacağını fakat vücut ısısında artışın LPS'nin dozuna göre değişmekle birlikte genelde endotoksinin intravenöz verilmesinden sonra 15 ve 75 dakika arasında gözlendiğini vurgulamışlardır. Nagaraja ve ark (1979) 3 ila 7 aylık buzağılarda 0,1 mg/kg ve 0,2 mg/kg dozda LPS'nin İV enjeksiyonunu takiben ikinci saatte vücut ısında değişikliklerin oluştuğunu ve 24. saatte ise eski seviyesine döndüğünü ifade etmişler ve vücut ısısındaki değişimlerin genelde 1,5-2,5°C arasında olduğunu gözlemişlerdir. Sunulan bu araştırmada LPS uygulanmasını takiben ilk 1 saat içersinde vücut ısısında artış gözlenmiş, ardından bir süre hipotermi (4.saat) takip etmiş ve hipotermiyi takibende hipertermi (18. saat) tekrar oluşmuştur. Vücut ısısındaki değişimler yaklaşık 36 saat sürmüştür (Grafik 3.1). Uygulanan LPS dozuna bağlı olarak monofazik veya bifazik ateşin gözlenebileceği bazı araştırıcılar tarafından da belirtilmiştir (Lohuis ve ark 1988a, Jacopsen ve ark 2005a). Horadagoda ve ark (2001) bufalo buzağıları üzerine yaptıkları deneysel septisemi çalışmasında vücut ısısının onikinci ve otuzaltıncı saatlerde pik yaptığını, yani vücut ısısının bifazik seyir gösterdiğini ifade etmiştir. Jacopsen ve ark (2005a) sığırlarda çeşitli dozlardaki LPS'nin kliniksel etkilerini değerlendirdikleri araştırmalarında sırasıyla 10ng/kg, 100 ng/kg, 1000ng/kg doza cevap olarak monofazik, bifazik, trifazik ateş tespit etmişlerdir. Sunulan bu araştırmada 100ng/kg dozda İV uygulanan LPS ile buzağılarda bifazik ateş gözlenmiştir. Vücut ısısında oluşan dalgalanma bireysel farklılık, LPS uygulama şekli ve LPS dozuna bağlı olabilir. Bifazik ateşle ilgili olarak ilk ateşin artmasının endotoksinin direkt termoregulasyon merkezini etkilemesiyle, ikinci kez ateş yükselmesini ise IL-1'in salıverilmesi ile ilgili olduğu görüşü ileri sürülmüştür (Lohuis ve ark 1988a). Son yıllarda yapılan bir çalışmada (Jacopsen ve ark 2005a) erken oluşan yüksek ateşin, endotoksinin beyin PGE_2 üretimi uyarması sonucu; sonraki oluşan yüksek ateşin ise PGE_2 salınımını indükleyen IL-1 ile ilişkili olduğunu belirtmiştir.

Endotoksin uygulamasını takiben solunum sayısı, solunum tipi, kalp vurum sayısında değişiklikler çeşitli araştırıcılar tarafından bildirilmiştir (Nagaraja ve ark 1979, Kenison ve ark 1991, Oikawa ve Yamaoka 2003). LPS'nin infüzyonunu takiben 20-30 dakika içerisinde vücut ısısındaki artışla birlikte, hayvanlar duyarsız hale gelir ve kalp vurum sayısında artma meydana gelebilir. Bu klinik bulgularla birlikte, bazen diyare, öksürme, nasal akıntı, yüksek solunum sayısıyla beraber

solunum tipinde de değişimler oluşabilir (Lohuis ve ark 1988a). Boosman ve ark (1989) sığırlarda günlük değişen dozlarda ve farklı yollarla verilen endotoksinin sonuçlarının değerlendirildiği bir çalışmasında; LPS'nin intradermal enjeksiyonu (0,09µg/kg) sonrası klinik görünümün çok az etkilendiğini, ancak endotoksinin intravenöz (0,15 µg/kg) uygulamasında ise solunum sayısında ve kalp atım sayısında önemli değişiklikler tespit etmiştir. Kalp atım sayısında önemli yükselmenin LPS enjeksiyondan sonraki 3,5-7,5 saatler arasında olurken, solunum sayısında ki değişimlerin daha erken dönemde (30dk-2 saat) oluştuğunu ifade etmiştir. Sunulan bu çalışmada kalp atım sayısı en üst seviyesine (115 vuru/dakika) LPS uygulamasını takiben altıncı saatte, solunum sayısındaki değişimlerin ise 15. dakikada başladığı gözlenmiştir (Grafik 3.3, 3.4). Gerros ve ark (1995) neonatal buzağılarda oluşturdukları endotoksemi çalışmasında çeşitli dozlardaki sonuçları değerlendirdiklerinde klinik değişikliklerin doza bağlı olarak şiddetlendiğini ve yüksek dozun (20 µg/kg) kardiyovaskuler ve perfüzyon cevapta dramatik gelişmelere neden olduğunu belirtmişlerdir. Horadagoda ve ark (2001) deneysel oluşturdukları septisemide iştahsızlık, salivasyon, dispne bildirmişlerdir. Deneysel endotoksemi oluşturulan buzağılarda (*Escherchia coli* 0111:B4 25µg/kg iv) ilk iki saat içinde 15 buzağıdan ikisi ölmüş ve diğer buzağılarda sternum üzerinde yatış, hafif solunum güçlüğünden şiddetli dispne haline kadar değişen görünümler zaman içinde tespit edilmiştir (Michaels ve Banks 1988). Benzer klinik bulguların (Grafik 3.6) sunulan bu çalışmada kullanılan buzağılarda da gözlenmiş olması, 0.1 µg/kg LPS'nin İV infüzyonu buzağılarda endotoksemi oluşturmak için yeterli doz olduğunu göstermiştir.

4.2. Akut Faz Proteinler

Akut faz cevap; infeksiyon, yangı, doku zedelenmesi, travma, yanıklar, neoplastik oluşumlar, immunolojik rahatsızlıklar nedeniyle organizmanın önde gelen sistemik reaksiyonudur (Alsemgest ve ark 1993, Niewold ve ark 2003, Orro ve ark 2004, Gruys ve ark 2005a, Gruys ve ark. 2005b, Ganheim ve ark 2007). Enfeksiyon veya yaralanmanın olduğu bölgedeki bir yangı reaksiyonunun varlığı ve ateş, depresyon, lökositozis, permeabilite artışı, iz element değişikliği gibi organizmadaki pek çok değişiklik ile karakterizedir. Akut faz cevap boyunca temel değişimlerden biri de karaciğerden üretilen plazma proteinlerdir. Akut faz protein olarak isimlendirilen bu proteinler organizmanın savunma mekanizmasında da çok önemli

rol oynar. Bazı APP'ler, gram negatif bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyona karşı nonspesifik koruma sağlar (Alsemgest ve ark 1993, Hochiped ve ark 2000, Orro ve ark 2004). Akut yangı durumlarında artan pozitif akut faz proteinlerinden olan Haptoglobin, pek çok araştırmacı (Conner ve ark 1986, Eckersall ve Conner 1988, Skinner ve ark 1991, Eckersall 2000, Ceciliani ve ark 2002, Humblet 2004, Chan ve ark 2004, Murata ve ark 2004, Orro ve ark 2006, Orro ve ark 2008, Eckersall 2007) tarafından sığırlarda temel akut faz protein olarak tanımlanmıştır. Sağlıklı hayvanlarda serum Hp seviyesi çok düşük veya tespit edilemeyecek seviyededir (Conner ve ark 1986, Eckersall ve Conner 1988, Ganheim 2004). Bazı araştırmacılar (Conner ve ark 1988, Conner ve ark 1989, Godson 1996) deneysel oluşturulan veya doğal oluşan enfeksiyon ve yangılarda APP'lerin yangı süresince seyrini tespit etmeye çalışmışlar ve serum Hp konsantrasyonunun akut faz cevabın indüklendiği durumlarda 50-100 kata kadar artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Sunulan bu araştırmada da LPS infüzyon öncesi Hp konsantrasyonu 8,13µg/ml gibi oldukça düşük düzeyde iken, 6. saatten itibaren yükselmeye başlamış, 18. saatte önemli artışlar göstermiş ve 36. saatte maksimum (500,85µg/ml) seviyeye ulaşmıştır. Murata (2004) yangı veya travma gibi bir uyarımla bazal seviyesinden 10 ila 100 kat arası artan APP'ler temel APP olarak tanımlamıştır. Sunulan bu araştırmada, Hp'nin bazal seviyesinden yaklaşık 60 katını aşan seviye yükselmesi ile Hp'nin buzağılar için temel akut faz protein tanımına uygunluk göstermiştir**.** Ayrıca serum Hp konsantrasyonunun 6. saatte başlayıp yaklaşık 144. saate kadar uzun süre yüksek seviyede kalması sepsisin prognozunun değerlendirilmesinde önem taşımaktadır. Sepsiste yangısal mediyatör (Interleukin-1, Interleukin-6 ve TNF gibi) aktivasyonun hızlı bir şekilde geliştiği çeşitli araştırıcılar tarafından belirtilmiştir. Bu yangısal mediatörlerin serum veya plazmadaki seviyelerinde artış veya azalma ilk 4 saat ile 18 saatlik dilim içersinde olmaktadır (Adams ve ark1990). Bu dönemlerde yangısal mediatörlerin belirlenmesinin zor ve zaman alması nedeniyle sığırlarda septiseminin prognozunun değerlendirilmesinde bu yangısal mediatörler pratik önem taşımamaktadır. Dowling ve ark. (2002) Pasteurella multicida biyotip A:3 ile farklı dozlarda intratracheal yolla uygulayarak buzağılarda pnömonik pasteurollozis oluşturmuş ve Hp'nin bakteriyal enfeksiyonlar için faydalı bir belirteç olduğunu, enfeksiyonu takiben Hp'nin 10 ile 100 kat artış gösterdiğini ifade etmiştir. Svenson ve ark (2007) ise sağlıklı buzağılarda Hp seviyesinin 100µg/dl seviyelerinde olduğunu belirtirken, kronik solunum sistem hastalıklı buzağılarda ise daha yüksek

olduğunu ifade etmişlerdir. Skinner ve ark (1991) Hp konsantrasyonunun 200µg/ml'den yüksek olduğunda orta şiddetli yangıyı, 400µg/ml civarındaki değeri ise şiddetli yangıyı ve 1-2 mg/dl seviyesindeki Hp'nin ise genişlemiş patolojik durumlarla ilgili olduğunu ifade etmişlerdir. Sunulan bu araştırmada da Hp konsantrasyonu (500,85µg/ml) göz önüne alındığında LPS infüzyonu sonrası buzağılarda şiddetli yangının geliştiği söylenebilir.

Sığırlarda doğal veya deneysel oluşturulan enfeksiyon ve yangıların gelişiminin tespitinde önemli akut faz proteinlerden bir diğerinin de SAA'nın olduğu çeşitli araştırıcılar tarafından belirtilmektedir (Eckersall 2000, Horadagoda ve ark 1999, Heegaard 2000, Ganheim ve ark 2003, Ganheim ve ark 2007, Nikunen ve ark 2007, Eckersall 2007). Boosman ve ark (1989)'ı akut faz cevabı değerlendirmek amacıyla LPS (0,15 µg/kg iv) ile sığırlarda endotoksemi oluşturmuş ve endotoksemiyi takiben 5. saatte SAA konsantrasyonunda önemli yükselme olduğunu ve bu artışın 17-20. saatlerde ise en üst seviyeye ulaştığını belirtmiştir. Jacopsen ve ark (2004) ise sığırlarda farklı dozlarda uyguladıkları LPS (10, 100, 1000 ng/kg) çalışmalarında çok düşük dozda (10ng/kg) bile akut faz cevabı gözlemlemişler, SAA, Hp ve albumin seviyesindeki değişikliklerin hem LPS dozuna hem de bireysel farklılığa bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bazı araştırıcılar (Werling ve ark 1996, Hirvonen 1999, Heergaard ve ark 2000) tarafından sığırlarda akut enfeksiyonlarda Hp'e göre SAA'nın daha hızlı tepki verdiği vurgulanmıştır. LPS'nin intravenöz enjeksiyonu (100 ng/kg) takiben Hp'nin 36. saatte, SAA'nın ise 6.saatte yükseldiğini tespit etmişlerdir. Sunulan bu araştırmada, SAA seviyesi 3. saatte yükselmeye başlamış önemli derecede artış 8. saatte olmuş ve 24-48. saatlerde ise en üst seviyeye ulaşmıştır. LPS infüzyonunu takiben SAA seviyesinde artış Hp'e göre daha erken (8. saat) başlamış fakat Hp'e göre daha erken zaman diliminde (96. saat) başlangıç seviyesine dönmüştür. Niewold (2003) SAA'nın sığırlarda ılımlı bir APP olduğunu ifade ederken, Murata (2004) ise hem ılımlı hemde temel akut faz protein olarak sınıflandırmuştır. Sunulan bu araştırmada, LPS uygulanmasını takiben buzağılarda SAA'nın bazal seviyesinin yaklaşık 15 katı kadar artış göstermesi ile buzağılarda temel akut faz protein olarak tanımlanabilir. Semrad ve Dubielzig (1993) tarafından neonatal buzağılarda yapılan çalışmada 0,1µg/kg-10 µg/kg artan dozlarda ve 104 saat içerisinde LPS'nin intravenöz uygulamalarında plazma protein değeri 96. saate kadar düşüş göstermiştir. Jacopsen ve ark (2004) sığırlarda 100 ng/kg ve 1000ng/kg dozda

intravenöz uyguladıkları LPS sonrasında albumin seviyesinin 30. dakika ve 5 saat aralığında belirgin azalmaların olduğunu belirtmişlerdir. Sunulan bu araştırmada negatif akut faz protein olan albumin seviyesinde azalmanın gözlenmesi pozitif akut faz protein konsantrasyonunda artışına paralel olarak, negatif akut faz protein konsantrasyonun azalmasıyla açıklanabilir. Diğer taraftan total protein konsantrasyonunda bir azalmanın gözlenmesinin albümin seviyesinin azalmasıyla ilişkili olması muhtemeldir.

4.3. Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler

Buzağılarda endotokemi solunum, hematoloji, kangazları ve serum biyokimyasal değerlerdeki değişimlerle ilişkilidir. Aynı zamanda endotokseminin akut döneminde asit baz dengesi de bozulur. Respiratorik vazokonstruksiyon nedeniyle respiratorik asidozis ve buna daha sonra eşlik eden metabolik asidozis ve sonrasında hiperlaktemi gibi değişiklikler gözlenmektedir (Andersen 2003). Hipoksi, öncelikle ventilasyon-perfüzyondaki kayıplar nedeniyle oluştuğu düşünülmekte ve buna sadece akciğer ödeminin katkı sağlamadığı belirtilmektedir (Lohuis 1988b). Hipoksinin nedeninin hipoventilasyon, difüzyondaki bozulma, ventilasyon-perfüzyon eşitsizliği veya şant'ın sebep olabileceği vurgulanmaktadır (Constable ve ark 1991). Sunulan araştırmamızda, başlangıç seviyesine göre venöz kan pH değeri (7,41) denemenin 30.dakikası ile 180 dakika zaman aralığında düşmüştür. Ancak pH seviyesindeki azalma ise istatistiksel olarak önemsizdi (Grafik 3.18). P_vO_2 seviyesinde denemenin 30. dakikasında önemli azalma gözlenirken, $PvCO_2$' seviyesinde ise hafif bir yükselme tespit edilmiştir. Kangazı parametrelerinde gözlenen bu değişiklikler endotoksemi sonucu solunum tipinin ve sayısının etkilenmesi ile ilişkili olması kuvvetle muhtemeldir. Lohuis (1988b) endotoksemide respirotorik asidozisi metabolik asidozisin takip ettiğini, plazma bikarbonat seviyesi ve kan pH'ın azaldığını ve muhtemelen şiddetli anaerobik glikolizis nedeniyle de laktik asit konsantrasyonunun arttığını belirtmiştir. Constable ve ark (1991) deneysel olarak endotoksemi oluşturdukları (0,1g/kg iv LPS) buzağılarda endotoksinin uygulanmasını takiben venöz kan pH değerinin başlangıçtaki seviyesinin (7,42) 30. dakikadan itibaren azalmaya başladığını ve 120. dakikadan itibaren ise pH seviyesinde önemli derecede düşme (7,25) olduğunu, P_vO_2 değerinin 30. dakika içerisinde önemli azalma görüldüğü fakat 30. dakikadan sonra normal seviyeler

arasında olduğunu ve P_vCO_2 değerinin ise 30.dakikadan sonra hafif arttığını belirtmişlerdir.

Endotoksemide oluşan karakteristik patofizyolojik değişiklikler; laktat seviyesinde artma, hiperglisemiyi takip eden hipoglisemi, LDH, asid fosfataz ve ß-glukuronidaz değerlerinde artış, lökopeniyi takiben lökositozis ve trombositopeni olarak belirtilmektedir (Nagaraja ve ark 1979). Bu çalışmada da intavenöz uygulan LPS'nin (0,1µg/kg) ardından total lökosit, lenfosit, nötrofil ve trombosit sayısında 30. dakika içerisinde önemli düşüşler gözlenmiş ve 12. saatten sonra ise lökosit sayısında artış gözlenmiştir (Grafik 3.22). Endotoksemide gözlenen lökopeninin en önemli sebebi, granulositlerin, trombositlerin ve monositlerin endotelial yüzeye yapışmaları ve margination/agregationu ile ilişkilidir. Templeton ve ark (1988) deneysel olarak endotoksemi (0,5-20µg/kg iv ve 10µg/kg-40µg/kg İP, LPS) oluşturdukları buzağılarda total lökosit, nötrofil ve lenfosit sayılarında önemli azalmalar tespit etmişlerdir.

Sığırlarda deneysel olarak düşük ve hafif yüksek LPS uygulamaları ile oluşturulan endotoksemilerde serum ALP, GGT, LDH, SDH ve GOT seviyelerinde önemli artışlar tespit edilmiştir (Griel ve ark 1975, Constable ve ark 1991, Kumar ve Malik 2001). Koyunlarda intravenöz endotoksin (0,1µg/kg) uygulamasını takiben ALP seviyesinde önemli düşüş gözlenirken; GGT, GOT, LDH ve SDH değerlerinde ise önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. ALP seviyesindeki benzer düşüş intravenöz endotoksin uygulanan buzağılarda da görülmüştür (Lohuis 1988b). Sunulan bu araştırmada, LPS uygulanan buzağılarda serum GGT, AST, ALP, total bilirubin, LDH ve BUN düzeylerinde belirgin artışlar gözlenmiş, ancak bu artışlar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Tablo 3.1). Serum enzim seviyelerinde artışların olması başta karaciğer olmak üzere bazı sistemik organların etkilendiğinin bir göstergesi olarak düşünülebilir. Constable ve ark (1991)'ının buzağılarda LPS (0,1 µg/kg iv) ile endotoksemi oluşturdukları bir çalışmalarında serum ALP değerinde belirgin artış tespit etmiş fakat bu artışın istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Kumar ve Malik (2001) deneysel endototoksemi (LPS iv 1µg/kg 12 saat ara ile 5 kez) oluşturdukları buzağılarda kan glukoz değerinde 1. saatte önemli artış, ardından 6-12. saatlerde önemli bir azalma gözlemiştir. Bu çalışmamızda, LPS infüzyonunu takiben serum glukoz seviyesinde 30. dakika ile 1. saat aralığında önemli yükselme (138 mg/dl), 4. saate ise önemli düşüş (26 mg/dl) gözlenmiştir. Yani glukoz seviyesi

bifazik seyir gözlenmiştir (Grafik 3.23). Glukoz seviyesinin enfeksiyonu takiben ilk 30 dakika içersinde artmış olması endotokseminin hayvanda oluşturduğu stres ile ilişkili olabilir. Diğer taraftan glukoz seviyesinde azalmanın muhtemel sebebi ise endotoksemi sonucu vücutta gelişen metabolik olaylar nedeniyle glukoz tüketiminin artışı ile ilişkili olabilir. Nagaraja ve ark (1979) oluşturdukları endotoksik şokta (LPS 100µg/kg iv) LPS'nin enjeksiyonu takiben glukoz seviyesi 1. saate kadar artış gösterirken(147mg/dl) 3. saatte düşüş (32,5mg/dl) gösterip sonrasında normal seviyelerine geldiğini belirtmiştir.

4.4. Koagulasyon Profili

Neoplazi, sepsis, şok ve pankreatitis gibi çeşitli hastalıklarda hemostatik bozukluk sonucu disseminant intravasküler kougulasyon gözlenir. Özellikle septisemi, DIC ile özdeşleştirilen en yaygın klinik bozukluktur. Hemen hemen bütün mikroorganizmalar DIC'e sebep olmakla birlikte, söz konusu sendromun gelişmesinde en sık bakteriyel enfeksiyonlar rol oynamaktadır. DIC intravasküler fibrinlerle sonuçlanabilen, fibrinojen-fibrin geçişini içine alan damar ağının içinde akut geçici koagulasyon sendromudur. Endotoksemi DIC'in oluşumunu tetikleyebilir (Thomson ve ark 1974). Gram negatif bakterilerin sebep olduğu sepsis vakalarında hastaların %50'sinden fazlasında DIC gelişebilmektedir (Thiis ve ark 1993, Gando ve ark 1996, Levi ve ark 1999). Bu çalışmamızda APTT ve PT değerinde önemli uzama meydana gelirken, APTT değeri LPS infüzyonunu takiben 2. saatte 117 sn, PT değeri ise 6. ve 24. saatler arasında 41-45 sn gibi önemli oranda yüksek tespit edilmiştir. APTT ve PT değerleri 72. saatte başlangıç seviyelerine gerilemiştir. PLT'de 30. dakika ile 36.saat arasında başlangıç değerine göre önemli azalma tespit edilirken, fibrinojen konsantrasyonu 1. saatte başlayan belirgin azalma göstermesine rağmen, istatistiksel olarak önemsizdi (Tablo 3.1). Thomson ve ark (1974) sığırlarda 20 µg/kg doz da intravenöz uygulanan endotoksini takiben oluşan endotoksemide plazma fibrinojen konsantrasyonunun ilk saatlerde başlayan düşüşü 12.saate kadar devam edip 36. saatte başlangıç seviyesine döndüğünü belirtmişlerdir. Aynı çalışmada PT değerinin ilk 3 saatte artığını, 48 saatte ise başlangıç seviyelerine geldiğini belirtmişlerdir. Irmak ve ark (2006) septik şok şüpheli buzağılarda koagulasyon profilini değerlendirdiklerinde APTT, PLT değerinde önemli bir artış PT değerinde hafif yükselme ve fibrinojende ise önemli bir artış gözlemişlerdir. Çöl ve Durgun (2004) tavşanlarda oluşturdukları endotoksemide APTT, PT seviyesinde

önemli artış ve fibrinojen seviyesinde ise önemli azalmalar olduğunu belirtmişlerdir. Sepsisli buzağılarda koagulasyon faktörlerinde gözlenen patolojik değişiklikler, sepsis ile DIC arasında önemli ilişkili olduğunu ileri süren çalışmalar, sunulan bu araştırmanın sonuçları ile paralellik göstermiştir. Sepsiste bakteriyel liposakkaridlerin varlığı nedeniyle koagulasyon faktörleri aktive edilir. Endotoksinlere vücudun ilk yanıtı koagulasyonu aktive etmesidir. Yangısal cevabın sürecine bağlı olarak, sistemik hiperkoagulopati DIC olarak bilinen hipokoagulopatiye dönebilir (Jain 1993, Otto ve ark 2000, Stokol ve ark 2000).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak;

- 0,1µg/kg dozda LPS'nin intravenöz uygulanmasıyla buzağılarda endotokseminin oluştuğu
- LPS ile deneysel olarak buzağılarda oluşturulan endotokseminin klinik görünümü doğal olarak gözlenen septisemi bulgularıyla benzerlik gösterdiği,
- Vücut ısısının bifazik seyir gösterdiği,
- Solunum sistemindeki değişikliklerin ilk 15 dakika içersinde başladığı,
- Kalp frekansındaki değişimlerin ise 1 saat içerisinde başladığı
- Lökopeniyi (1.saat) takiben lokositozisin (18.saat) geliştiği,
- T ve B lenfosit sayısında 30 dakikada başlayan bir azalmanın olduğu
- APTT, PT, trombosit ve fibrojen gibi koagulasyon parametrelerinde anormal değişikliklerin oluştuğu,
- Bazı serum biyokimyasal parametrelerde (Glukoz, GGT, AST, ALP, BUN) değişimlerin gözlendiği,
- Serum Amiloid A'nın (8. saatte) Haptoglobin'e (18. saatte) göre daha erken yükseldiği fakat serum Amiloid A'nın (96. saatte) Haptoglobin'e (144.saatte) göre daha erken bazal seviyeye düştüğü,
- Buzağılara LPS infüzyonunu takiben 36. saatte haptoglobin seviyesi 500.85 gibi bazal seviyenin 60 kat artması ile SAA 'ya göre buzağı septisemisi için daha prognostik bir indikatör olabileceği ifade edilebilir.

Bu sonuçlar temelinde doğal olarak gelişen buzağı septisemilerin teşhis ve prognozun değerlendirilmesinde yukarıda sunulan değişimlerin dikkate alınarak yaklaşımlarda bulunmanın daha faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Lipopolisakkarid (*E.Coli*) İle Deneysel Olarak Endotoksemi Oluşturulan Buzağılarda Akut Faz Proteinlerin Klinik Teşhisteki Önemi

Alparslan COŞKUN

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2008

Bu araştırmada lipopolisakkarid ile endotoksemi oluşturulan buzağılarda; klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile Haptoglobin, Serum Amiloid A ve Fibrinojen konsantrasyonları belirlemek ve bu parametrelerin endotokseminin teşhis ve prognozundaki önemi ortaya koymak amaçlanmıştır.

Araştırmada toplam 8 adet sağlıklı 30 ile 45 günlük buzağı kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm buzağılara endotoksemi oluşturmak için 0,1µg/kg dozda LPS intravenöz yolla uygulandı. Buzağılara LPS uygulamadan -24. saat ve 0.saatlerde ve uygulamayı takiben 0.5, 1., 2., 4.,6.,8.,12.,18.,24., 48., 72., 96., 120., 144., 168., 192., 216. ve 240. saatlerde kan örnekleri alındı.

Genelde tüm buzağılarda intravenöz LPS infüzyonunu takiben ilk 30-60 dakika içersinde anormal klinik değişikler gözlenmeye başlanmıştır. Tüm hayvanlarda belirgin şekilde refleks ve bilinç kaybı oluşmuştur.

Hematolojik sonuçlara göre çalışmanın ilk saatlerinde önemli derecede lökopeni, daha sonra lokositozis, T ve B-lenfosit sayılarında önemli azalma tespit edildi. Ayrıca APTT, PT, trombosit ve fibrojen gibi koagulasyon parametrelerinde anormal değişiklikler de gözlenmiştir.

LPS uygulamasını takiben ortalama Hp değeri 8,13µg/ml seviyesinden 6. saatte 20,84µg/ml seviyesine yükselmiş, 36. saatte ise 500,85 µg/ml gibi maksimum seviyesine ulaşmıştır. Ve Hp seviyesi çalışmanın 144. saatinde basal seviyeye düşmüştür. SAA konsantrasyonun bazal seviyesi 12,37 µg/ml iken, LPS infüzyonunu takiben 3. saatte (30,22µg/ml) yükselmeye başlamış, 24.saate (185,27µg/ml) ise maksimum seviyesine ulaşmıştır.

Sonuç olarak, klinik ve laburatuvar bulgular temelinde buzağılara 0,1µg/kg dozda LPS'nin intravenöz uygulanmasıyla endotoksemi gelişmiştir. Hem Hp hem de SAA'nın buzağılarda endotoksemi için indikatör olduğu anlaşılmıştır. Haptoglobin'in SAA ile kıyasla, buzağı endotoksemisi için daha prognostik bir indikatör olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcükler: Buzağı, Endotoksemi, Haptoglobin, Serum Amyloid A

7. SUMMARY

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

The Importance in Clinical Diagnosis of Acute Phase Protein in Calves That Experimentally Lipopolisaccharide (*E.Coli*) Induced Endotoxemia

Alparslan COŞKUN

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2008

The purpose of this study was to determine the importance of haemathology, biochemical parameters, disseminant intravasculer coagulopathy and concentrations of acute phase proteins (Haptoglobin, fibrinogen and Serum Amiloid A) in the diagnosis and prognosis of calves experimentally endotoxemia induced with Lipopolisaccharide.

A total of eight healthy Holstein calves, aging 30 to 45 days old were used in this study. In all calves, the endotoxemia were induced by giving 0,1µg/kg doses of LPS in 50 ml physiologic saline via intra-venous route. In order to determine the changes in heamathologic, biochemical, IgG, cougulation, haptoglobin and serum Amiloid A levels, blood samples were collected before (24 hour) and after the endotoxemia induction at 0, 0.5, 1, 2, 4,6,8,12,18,24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 and 240 hours of study. In addition, clinical symptoms or signs of endotoxemia were also observed following LPS infusion.

Haematological examination showed that a significant leucopenia, folowed by a leucocytosis and decresead T and B-Lyphocytes levels were detected at the first hours of study. Abnormal chances were also observed in cougulation parameters such as APTT, PT, trombosit and fibrinogen during study.

The serum (Hp) concentrations were increased from basal levels (8,13µg/ml) to 20,84µg/ml levels at 6th hours following LPS infusion. The highest Hp concentration (500,85 µg/ml) was found at 36 hours after LPS infusion. And than, the Hp levels were declined to basal levels at 144 hour of study. First 3 hours following LPS infusion, the SAA concentrations have increased from basal levels (12,37 µg/ml) to 30,22µg/ml levels, and the highest concentration (185,27µg/ml) of SAA was measured at 24. at hours of study. And than SAA level has declined to basal levels at 120. hours of study.

In general, abnormal clinical changes such as anorexia, depression, increased respiratory counts and heart rate were observed between 30 and 60 minutes following LPS infusion and the different degree of depressions were determined in all calves.

In conclusion, based on clinical and laboratory findings, the endotoxemia was successfully induced by giving 0,1µg/kg doses LPS via intra-venous route. Results suggest that both Hp and SAA could be used as an indicator in the diagnosis of calves with endotoxemia. Moreover, haptoglobin might be a better indicator for calves with endotoxemia than SAA.

Key words: Calves, Endotoxemia, Haptoglobin, Serum Amyloid A

8. KAYNAKLAR

Adams JL, Semrad SD, Czuprynski CJ. Administitration of bacterial lipopolysaccharide elicits circulating tumor necrosis factor-alpha in neonatal calves, American Society for Microbiology, 1990, 28,5 ,998-1001

Aldridge BM, Garry FB, Adams R. Neonatal septicemia in calves: 25 cases (1985-1990), J. Am. Vet. Med. Assoc., 1993, 203,9,1324-9

Alsemgeest SPM. Lamboy IE, Wierenga HK, Dieleman SJ, Meerkerk B, van Ederen AM, Niewold TA. Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid –a and haptoglobin in calves, Veterinary Quarterly, 1995, 17, 9-12

Andersen PH. Bovine endotoxicosis-Some aspects of relevance to production diseases a review, Acta Vet Scand, 2003, 98,141-155

Aştı RN, Kurtdede N, Ergün L. Kangal köpeklerinin perifer kan T-lenfositleri üzerinde ışık ve elektron mikroskobik çalışmalar, A.Ü.Vet.Fak.Derg., 1995, 40 (4),563-576

Aygün G. Sepsis ve septik şok, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri 2002, 31,131-140

Basso G, Cocito MG, Semenzato G, Pezzutto A, Zanesco L. Cytochemical study of thymocytes and T lymphocytes, Br J Haematol, 1980, 44, 577-582

Başoğlu A, Sen İ, Sevinc M, Simsek A. Serum concentrations of tumor necrosis factor-a in neonatal calves with presumed septicemia, J Vet Intern Med, 2004, 18,2,238-241

Bick RL Dissaminated intravaskular coagulation: Areviewof etiology, pathophysiology, diagnosis and management:guidelines for care, Clin Appl Thrombosis/hemoztasis, 2002, 8,1,1-31

Biniek K, Szuster-Ciesielka A, Kaminska T, Konracki M, Witek M, Kandefer-Szerszen M. Tumor necrosis factor and interferon activity in the circulation of calves after reated injection low doses of lipopolisacharide, Veterinary Immunology and Immunopathology, 1998, 62,297-307

Blindar VN, Lebedeva NB, Zubrikhina GN, Soloveva EA. Alpha-naphthyl acetate esterase-a cytochemical marker of the T-helpers, Clin. Lab. Diagn., 1993, 6, 38-40

Bone RC, Charles JF, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. Sepsis sydrome:A valid clinical entity, Critical Care Medicine, 1989, 17,5,389-393

Bone RC. The pathogenesis of sepsis, Ann İntern Med., 1991, 115,457-469

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinder RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RMH, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ afailure and guidelines fort he use of innovative therapies in sepsis, Chest, 1992, 101,1644-1655

Boosman R, Niewold TA, Mutsaers CWAAM, Gruys E. Serum Amylod A concentrations in cows given endotoxin as an acute phase stimulant, Am J Vet Res, 1989, 50,10,1690-1694

Ceciliani F, Giordano A, Spagnolo V. The systemic reaction during inflammation: the acute phase proteins, Protein ve Peptide Letters, 2002, 9,3,211,223

Chan JPW, Chu CC, Fung HP, Chuang ST, Un YC, Chu RM, Lee SU. Serum haptoglobin consentration in cattle, J. Vet. Med. Sci., 2004, 66,1, 43-46

Conner JG, Eckersall PD, Doherty M, Douglas TA. Acute phase response and mastitis in the cow, Res Vet Sci, 1986, 41,1,126-8

Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, Aitchison TC, Douglas TA. Bovine acute phase response following turpentine injection, Res Vet Sci, 1988, 44,1,82-88

Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, Bain RK, Douglas TA. Acute phase response in calves following infection with Pasteurella haemolytica, Ostertagia ostertagi and endotoxin administration, Res Vet Sci, 1989,47,2,203-7

Constable PD, Schmall LM, Muir WW, Hoffsis GF. Respiratory, renal, hematologic, and serum biochemical effects of hypertonic saline solution in endotoxemic calves, Am J Vet Res, 1991, 52,7,990-997

Constable PD. Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea, J Vet Intern Med, 2004, 18,1,8-17.

Costable PD. General Medicine, Veterinary Medicine Ed Radostits OM, 10th ed. Salinders, USA 2007, 51,58

Çelik İ, Aştı RN, Ergene N. İnsan perifer kanındaki B, T ve Null lenfositlerinin esteraz sitokimyası ve yüzey immünoglobülinlerinin immünoenzimatik yöntemle boyanarak belirlenmesi, S.Ü. Tıp. Fak. Derg. 1991, 7(4), 497-503.

Çöl R, Durgun Z. Tavşanlarda endotoksin ile oluşturulan dissemine intravasküler koagulasyon üzerine vitamin e ve prednisolon'un etkileri, Vet Bil Derg, 2004, 20,1,29-38

Danek J. Effects of Flunixin Meglumine on Selected Clinicopathologic Variables and Serum Testosterone Concentration in Stallions after Endotoxin Administration, J Vet Med A, 2006, 53, 357-363

Dardi MS, Sharma SK, Srivastava AK. Pharmacokinetics and dosage regimen of ceftriaxone in E. coli lipopolysaccharide induced fever in buffalo calves, J Vet Sci, 2005, 6,2,147-50

Declue AE, Cohn LA, Lechner ES, Bryan ME, Dodam JR. Effects of subanesthetic doses of ketamine on hemodynamic and immunologic variables in dogs with experimentally induced endotoxemia Am J Vet Res 2008, 69,2,228-232

Deignan T, Alwan A, Kelly J, Mcnair J, Warren T, O'Farrelly C. Serum haptoglobin: an indicator of experimentally- induced salmonella infection in calves, Research in Vetyerinary Science, 2000, 69,153-158

Deldar A, Naylor JM, Blomm JC. Effects of escherchia coli endotoxin on leukocyte and platelet counts, fibrınıjen concentrations and blood clotting in colostrum fed and colostrum deficient nenatal calves, Am J Vet Res, 1984, 45,4,670-677

Diker S. İmmunoloji, Medisan, Ankara, 2005, 191-193

Dinarello CA. İnterleukin-1 and its biologically related cytokines, Adv.İmmunol, 1989, 44,153-205

Dowling A, Hpodgson JC, Dchock A, Donachie W, Eckersall PD, Mckendrick M. Experimental induction of pneumoic pateurelosis in calves by intratracheal infection with pateurella multocida, Res Vet Sci, 2002, 73,37-44

Eckersall PD, Conner JG. Bovine and canine acute phase proteins, Vet Res Commun, 1988, 12,2-3,169-78

Eckersall PD, Safi S, Weber A, Mcdonald T, Young F, Fitzpatrick J, Logue D, Knight C, Nolan A. The acute phase protein response of haptoglobin serum amyloid A and α1-acid glycoprotein in dairy cows with mastitis, 4. european comparative clinic pathology meeting, 1999, Verona, İtalya

Eckersall PD (2000) Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as marker of disease in animals, Revue Med. Vet, 151,577-584

Eckersall PD, Young FJ, McComb C, Hogarth CJ, Safi S, Weber A, McDonald T, Nolan AM, Fitzpatrick JL. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis, Vet Rec, 2001, 148,2,35-41.

Eckersall PD. Acute phase proteins as monitoring tools in farm animals 13th intertional conference, production diseases in farm animals, 2007,Leipzig, Germany

Elmas M, Yazar E, Uney K, Karabacak A. Pharmacokinetics of flunixin after intravenous administration in healthy and endotoxaemic rabbits, Vet Res Commun, 2006a,30, 73-81

Elmas M, Yazar E, Uney K. and Karabacak A. Influence of escherichia coli endotoxin-ınduced endotoxaemia on the pharmacokinetics of enrofloxacin after ıntravenous administration in rabbits, Journal of Veterinary Medicine A, 2006b, 53, 410-414

Elmas M, Yazar E, Uney K, Karabacak A, Traş B. Pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine and interactions between both drugs after intravenous co-administration in healthy and endotoxaemic rabbits, Vet J, 2007,16

Elsasser TH, Blum JW, Kahl S. Characterization of calves exhibiting a novel inheritable TNF-α hyperresponsiveness to endotoxin: associations with increased pathophysiological complications, J Appl Physiol, 2005, 98,2045-2055

Engin A, Kurukahvecioğlu O, Bukan N, Dursun A. Ratlarda lipopolisakkarid ve lipoteikoik asit ile oluşan karaciğer hasarında l-arginin ve ng- nitro-l-arginin metilester'in etkisi, TJTES, 2003, 9,3,163,168

Ergün L, Özen A, Ergün E, Aştı RN. Alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of turkeys, Indian Vet J, 2004a, 81, 431-434.

Ergün E, Ergün L, Özen A, Aştı RN. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of ostrich (Stuthio camelus masaicus),Revue Vet Med 2004b, 155,3,147-150

Ertuğrul S, Aydın M, Yılmaz H. Yaygın damariçi pıhtılaşması, Güncel Pediatri 2006, 3,96-101

Facteau G, Van Metre DC, Pare J, Smith BP, Higgins R, Holmberg CA, Jang S, Guterbock W, Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves, Can. Vet. J, 1997a, 38,95-100

Facteau G, Van Metre DC, Pare J, Smith BP, Higgins R, Holmberg CA, Jang S, Guterbock W, Use of clinical sepsis score for predicting bacteremia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm, Can. Vet. J., 1997b, 38,101-104

Fışgın NT. Sepsis, OMÜ Tıp Dergisi, 2004,21,2,100-109

Fournier T, Medjoubi-N N, Porquet D. Alpha-1 acid glycoprotein. Biochimica et Biophysica Acta, 2000,14,82,157-171

Gando S, Kameue T, Nanzaki S, Nakanishi Y. Disseminated intravascular coagulation is a frequent complication of systemic inflammatory response syndrome Thromb Haemost 1996,75,2,224-228

Ganheim C, Hulten C, Carlsson U, Kinahl H, Niskanen R, Waller KP The acute phase response in cales experimetally infected with bonine viral diarrhoea virus and/or Manheimia haemolytica J Vet Med B 2003,50,183-190

Ganheim C, Hoglund J, Waller KP. Acute phase protein in response Dictyocaulus viviparus infection in calves, Acta Vet Scand, 2004,45, 1-2,79-86

Ganheim C, Alenius S, Persson WK. Acute phase proteins as indicators of calf herd health, Vet J, 2007 173,3,645-51

Gerros T.C., Semrad S.D., Proctor R.A., Lborde A. Effect of dose and method of administration of endotoxin on cell mediator release in neonatal calves, Am j Vet Res, 1993,54,12,2121-2127

Gerros TC, Semrad SD, Proctor RA. Alterations in clinical, hematological and metabollic variables in bovine nenatal endotoxemia, Can J Vet Res, 1995,59,34-39

Glass EJ, Craigmile SC, Springbett A, Preston PM, Kirvar E, Wilkie GM, Eckersall PD, Hall FR, Brown CGD. The protozoan parasite, theleria annulata, induces a distinct acute phase protein response in cattle that is associated with pathology, İnternational Journal of Parasitology, 2003,33,1409-1418

Godson DL, Campos M, Attah-Poku SK, Redmond MJ, Cordeiro DM, Sethi MS, Harland RJ, Babiuk LA. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease, Vet Immunol Immunopathol, 1996,51,3-4,277-292

Griel LC, Zarkover A, Eberhart RJ. Clinical end clinico-pathological effecta of esherchia coli endotoxin in mature cattle, Can J Comp Med, 1975,39,1-6

Grönlund U, Hultén C, Eckersall PD, HogarthC, Waller KP. Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced Staphylococcus aureus mastitis, Journal of Dairy Research, 2003,70,379-386

Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM. Diagnostic significance of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review, Vet. Bull., 1994,64,1009-1018

Gruys E, Toussaint MJ, Upragarin N, Van EA, Adewuyi AA, Candiani D, Nguyen TK, Sabeckiene J. Acute phase reactants, challenge in the near future of animal production and veterinary medicine, Journal of Zhejıang Unıversıty Scıence B, 2005a, 6,10,941-947

Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. J Zhejiang Univ Sci B. 2005b,6,11,1045-1056

Gürsu HA. Yeni doğan sepsisi tansında SAA'nın önemi ve CRP ile karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, 2005, İstanbul

Hardaway RM. A Review of Septic Shock, Am Surg, 2000, 66,22-29

Heegaard PMH, Godson DL, Toussaint MJM, Tjornehoj K, Larsen LE, Viuff B, Ronsholt L. The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with respiratory syncytial virus, Veterinary immunology and immunopathology, 2000,77,151-159

Higgy KE, Burns GF, Hayhoe FGJ. Discrimination of B, T and Null lymphocytes by esterase cytochemistry, Scand. J. Haematol., 1977,18, 437-448.

Hirvonen J, Eklund K, Teppo AM, Huszenicza G, Kulcsar M, Saloniemi H, Pyorala S. Acute phase response in dairy cows with experimentally induced Escherichia coli mastitis. Acta Vet Scand. 1999,40,1,35-46

Ho LWW, Kam PCA, Thong CL. Disseminated intravascular caogulation, Current Anaesthesia&Critical Care, 2005,16,151-161

Hochepied T, Van Mol le W, Berger FG, Baumann H, Libert C. Involvement of the acute phase protein alpha 1-acid glycoprotein in nonspecific resistance to a lethal gram-negative infection, J Biol Chem, 2000,19,20,14903-9

Horadagoda NU, Knox KMG, Gibbs HA, Reid SWJ, Horadagoda A, Edwards SER, Eckersall PD. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflamation, The Vet Record, 1999,144,437-441

Horadagoda NU, Hodgson JC, Moon GM, Wijerwadana M, Eckersall PD. Role of endotoxin in the pathogenesis of hemorrhagic septicaemia in the buffalo, Microbial Pathogenesis, 2001,30,171-178

Humblet MF, Coghe J, Lekeux P, Godeau JM. Acute phase ptotein assessment for an early selevtion treatments in growing calves suffering from bronchopneumonia under field conditions, Research in Vetyerinary Science, 2004,77,41-47

Inoue K, Akaike T, Miyamato Y, Okamoto T, Sawa T, Otagiri M, Suzuki S, Yoshimura T, Maeda H. Nitrosothiol formation catalyzed by ceruloplasmin implication for cytoprotective mechanism in vivo. Journal of Biological Chemistry, 1999,274,27069-27075

Inoue G. Effect of interleukin-10 (IL-10) on experimental LPS-induced acute lung injury, Journal of Infection and Chemotherapy, 2000,6,1,51-60

Irmak K, Sen I, Çöl R, Birdane FM, Güzelbekteş H, Civelek T, Yılmaz A. The evaluation of coagulation profiles in calves with suspected septic shock, Vet Res Com, 2006,30,497-503

Ismail M. A Pharmacokinetic Study Of Danofloxacin In Febrile Goats Following Repeated Administration Of Endotoxin, J Vet Pharmacol Therap, 2006,29,313-316

Jacopsen S, Niewold TA, Kornalijnslijper E, Toussaint MJM, Gruys E (2003) The kinetics of serum amyloid A accumulation in milk from cows with experimentally induced E. Coli mastitis, Fourth Europan Colloquim on acute phase proteins, 2003,Segova, İspanya

Jacopsen S, Toelboell T, Andersen PH. Dose dependency and individual variability of the lipopolysaccharide-induced bovine acute phase protein response, J Dairy Sci., 2004,87,10,3330-9

Jacopsen S, Toelboell T, Andersen PH. Dose dependency and inidividial variability in salacted clinical response after sistemic lipopolysaccharide challenge in cattle, Vet Res 2005a,36, 167-178

Jacopsen S, Niewold TA, Halling-Thomsen M, Nanni S, Olsen E, Lindegaard C, Andersen PH. Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis, Veterinary Immunology and Immunopathology, 2005b,110,15,325-330

Jain N. Essentials of Veterinary Heamatology, Lea & Febiger, 1993,Philadelphia

Kajikawa O, Koyama H, Yashikawa T, Tsubaki S, Saito H. Use of alpha-naphthyl acetate esterase staining to identify T lymphocytes in cattle, Am. J. Vet. Res., 1993,44,8, 1549-1552.

Kenison DC, Elsasser TH, Fayer R. Tumor necrosis factor as a potential mediator of acute metabolic and hormonal response to endotoxemia in calves, Am j Vet Res, 1991,52,8,1320-1326

Knowles DM, Holck S. Tissue localization of T-lymphocytes by the histochemical demonstration of acid α-naphthyl acetate esterase, Lab. Invest., 1978,39,1, 70-76

Knowles DM, Halper JP. Human medullary and kortical thymocytes are distinguishable according to the presence or absence of cytochemically demonstrable acid α-naphthyl acetate esterase (ANAE) activity J. Immunol., 1980,125,6, 2823-2825

Konuk T. Pratik Fizyoloji. A.Ü. Basımevi, 1981,Ankara

Kumar R, Malik JK. Effects of multiple injections of Escherichia coli endotoxin on the pharmacokinetics and dosage regiments of a long-acting formulation of oxytetracycline (OTC-LA) in cross-breed calves Veterinarski Arshiv 2001,71,5,245-263

Lampreave F, Gonzalez-Ramon N, Martinez-Ayensa S. Characterization of the acute phase serum protein response in pigs. Electrophoresis 1994,15:672–676

Lee WC, Hsiao HC, Wu YL, Lin JH, Lee YP, Fung HP, Chen HH, Chen YH. Serum C-reactive protein in dairy herds, The Canadian Journal of Veterinary Research, 2003,67,102-107

Levi M, Van der Poll T, Ten CH, van Deventer SJH. The cytokine-mediated imbalance between coagulationt and anticoagulant mechanisms in sepssis and endotoxemia, Europan Journal of Clinical İnvestigation, 1997,27,3-9

Levi M, de Jonge E, Van der Poll T, Ten CH. Disseminated intravascular coagulation. Thromb Haemost. 1999,82,2,695-705

Levi M, de Jonge E, Van der Poll T, Ten CH. Novel approaches to the management of disseminated intravascular coagulation, Crit Care Med, 2000,28,9,20-24

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, Crit Care Med, 2003,31,4,1250-1256

Li CY, Yam LT, Crosby WH. Histochemical characterization of cellular and structural elements of human spleen, J. Histochem. Cytochem., 1972,20,12,1049-1058.

Liu HH, Zhao TB, Li ZL. Changes of serum urea and creatinine concentrations in rats with lipopolysaccharide and heat co-exposure Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao 2008,28,1,86-88

Lıu L, Kıta L, Tanaka N, Kınoshıta Y The Expression Of Tumour Necrosis Factor İn The Hypothalamus After Treatment With Lipopolysaccharide, International Journal Of Experimental Pathology, 1996,77,1,37-44

Lofstedt J, Dohoo IR, Duizer G. Model to Predict Septicemia in Diarrheic Calves, J Vet Intern Med, 1999,13, 81–88

Lohuis JACM, Verheijden YHM, Burvenich C, Van Miert ASJPAM. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants. 1.Changes in body temparature and reticulo-rumen motility and the effect of repeated administration, The Veterinary Quarterly, 1988a,10,2,109-116

Lohuis JACM, Verheijden YHM, Burvenich C, Van Miert ASJPAM. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants 2. metabolic aspects, The Veterinary Quarterly, 1988b,10,2,117-125

Mackay RJ. Endotoxemia, Large Animal İnternal Medicine, Ed: Thomson B., Mosby, Miisouri,1996 733,741

Maiti NK, Saini SS, Sharma SN. Histochemical studies on chicken peripheral blood lymphocytes, Vet. Res. Commun., 1990,14, 207-210

Mcdonald TL, Larson MA, Mack DR, Weber A (2001) Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. Veterinary İmmunology and İmmunopatholgy, 2001,83,203-211

Miert AS. Pro-inflammatory cytokines in a ruminant model: pathophysiological, pharmacological, and therapeutic aspects. Vet Q. 1995,17,2,:41-50.

Micheals FH, Banks KL. Conribution of various host factors to rsistance to experimentally induced bacterial endotoxemia in calves Am J Vet Res 1988,49,4, 557-562

Mold C, Rogriguez W, Rodic-Polic B, Du Clos TW. CRP mediates protection from lipopolysaccaharide through interactions with Fc-gammaR. Journal of Immunology 2002,169,7019-7025

Morris DD, Cullor JS, Whitlock RH, Wickstrom M, Corbeil LB. Endotoksemia in neonatal calves given antiserum to a mutant Esherichia coli (j-5) Vet Res 1986,47,12,2554,2565

Moore DF, Rosenfeld MR, Gribbon PM, Winlove CP, Tsai CM. Alpha-1 acid glycoprotein:ınteraction with bacterial lipopolisaccaharide and protection from sepsis. Inflammation 1997,21,69-82

Mueller J, Brundel Re G, Buerki H, Keller HU, Hess MW, Cottier H. Nonspesific acid esterase activity: a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes, Eur. J. Immunol., 1975,5, 270-274

Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis, The Veterinary Journal, 2004,168, 28-40

Nagaraja TG, Bartley EE, Anthony HD, Leipold HW, Fina IR. Endotoxin shock in calves from intravenöz injection of Rumen bacterial endotoxin, Journal of Animal Science, 1979,49,2,567-581

Nguyen HB, Rivers EP, Abrahamamian FM, Moran GJ, Abraham E, Trzeciak S, Huang DT, Osborn T, Stevens D, Talan DA. Severe sepsis and septic shock:Review of the literature and Emergency Department management guidelines, Annals of Emergency Medicine, 2006,48,1,28-54

Niewold TA, Tousaint MJM, Gruys E. Monitoring health by acute phase proteins Fourth Europan Colloquim on acute phase proteins 57-67,2003, Segova, İspanya

Nikunen S, Hartel H, Orro T, Neuvonen E, Tanskanen R, Kivela SL, Sankari S, Aho P, Pyorala S, Saloniemi H, Soveri T. Association of bovine respiratory disease with clinical satus and acute phase rotein in calves Comp Immun Microbiol İnfect Dis, 2007,30,143-151

Nukina H, Sudo N, Aiba Y, Oyama N, Koga Y, Kubo C. Restraint stress elevates the plasma interleukin-6 levels in germ-free mice, Journal of Neuroimmunology, 2001,115,46-52

Ohtsuka H, Kudo K, Mori K, Nagai F, Hatsugaya A, Tajima M, Tamura K, Hoshi F, Koiwa M, Kawamura S. Acute phase response in naturally occurring coliform mastitis. J Vet Med Sci. 2001,63,6,675-8

Oıkawa M, Yamaoka S. Clinical, Hematological, and Biochemical Analysis of Experimental Endotoxemia in Thoroughbred Horses, J Eq Sci, 2003,14,1,5-12

Ok M, Aslan V. Retikuloperitonitis travmatikalı sığırların teşhis ve prognozunda kan proteinleri ve gluteraldehit testinin önemi, Vet. Bil. Derg. 1994,10,1,2,90-95

Orro T, Sankari S, Pudas T, Oksanen A, Soveri T. Acute phase response in reindeer after challenge with Escherichia coli endotoxin, Comp İmmunol Microbiol infect Dis, 2004,27,6,413-422

Orro T, Nieminen M, Tamminen T, Sukura A, Sankari S, Soveri T. Temporal changes in concentrations of serum amyloid-A and haptoglobin and their associations with weight gain in neonatal reindeer calves, Comp Immunol Microbiol Infect Dis., 2006,29,2-3,79-88

Orro T, Jacobsen S, Lepage JP, Niewold T, Alasuutari S, Soveri T. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. Vet J. 2008,176,2,182-187

Otto CM, Rieser TM, Brooks MB, Russell MW. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis, J Am Vet Med Assoc, 2000,217,10,1500-1504

Pangalis GA, Waldman SR, Rappaport H. Cytochemical findings in human nonneoplastic blood and tonsillar B and T lymphocytes, Am. J. Clin. Pathol., 1978,69,314-318

Patel BN, Dunn RJ, Jeong SY, Zhu Q, Julien JP, David S. Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. Journal of Neuroscience, 2002,22,6578-6586

Pineiro M, Alava MA, Lampreave F. Acute phase proteins in different species: a review, Fourth Europan Colloquim on acute phase proteins, 77-82,2003,Segova, İspanya

Price J, Nolan AM. Analgesia of newborn lambs before castration tail docking with rubber rings. Veterinary Record, 2001,149,321-324

Pyorala S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis, Vet Res. 2003,34,565-578

Pruthi AK, Gupta RKP, Sadana JR. Acid alpha naphthyl acetate esterase activity in peripheral blood lymphocytes and monocytes of chickens, J. Vet. Med. A., 1987,34, 390-392

Ranki A. Non-spesific esterase activity in human lymphocytes, Clin. Immunol. Immunopathol., 1978,10, 47-58

Regassa F, Noakes DE. Acute phase protein response of ewes and release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria Veterinary Record, 2000,144,502-506

Rhoades KR, Heddleston KL, Rebers PA. Experimental hemorrhagic septicemia: gross and microscopic lesions resulting from acute infections and from endotoxin administration. Can J Comp Med Vet Sci. 1967,31,9,226-233

Rubel C, Fernandez GC, Dran G, Bompadre MD, Isturiz MA, Palermo MS. Fibrinojen promotes neutrophil activation and delays apoptosis. Journal of İmmunology, 2001,166,2002-2010

Schroedl W, Jaekel L, Krueger M. C-reaktive protein and antibacterial activity in blood plasma of colostrum-fed calves and the effect of lactulose Journal Dairy Science, 2003,86, 3313-3320

Semrad SD. Comparison of flunixin, prednisolone, dimethyl sulfoxide, and a lazaroid (U74389F) for treating endotoxemic neonatal calves, Am J Vet Res, 1993a,54,9,1517-1522.

Semrad SD. Comparative efficacy of flunixin, ketoprofen, and ketorolac for treating endotoxemic neonatal calves, Am J Vet Res, 1993b,54,9,1511-1516.

Semrad SD, Dubielzig R. Efect of repeated administration of tirilazad mesylate on healthy and endotoxemic calves :A pilot study, Can J Vet Res, 1993,58,67-70

Skinner J.G., Brown R.A, Roberts L. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions Vet.Rec. 1991,16,7,147-9

Stokol T, Brooks MB, Erb HN, Mauldin GE. D-dimer concentrations in healthy dogs and dogs with disseminated intravascular coagulation, Am J Vet Res, 2000,61:393-398

Svenson C, Liberg P, Hultgren J. Evaluating the efficacy of serum haptoglobin concentration as an indicator of respiratory-tract disease in dairy calves, The Veterinary Journal, 2007,174,288-294

Templeton CB, Bottoms GD, Fesler JF, Turek JJ. Hemodynamics, plasma eicosanoid concentrations, and plasma bichemical cahnges in calves given multiple injections of Escherchia coli endotoksin, Am J Vet Res, 1988,49,1,90-95

Thiis LG, de Boer JP, de Groot MC, Hack CE. Coagulation disorders in septic shock, Intensive Care Med. 1993,19,1,8-15

Thomas JS. Overwiev plasma proteins, Schalm's Veterinary Hematology Lippincott Williams, Wilkins, 2000,Philadelphia

Thomson GW, McSherry A, Valli VEO. Endotoxin induced disseminated intravascular coagulation in cattle, Can J. Comp. Med, 1974,38,457-466

Tiftik AM. Klinik Biyokimya Mimiza AŞ, 1996,Konya

Tizard I. Veterinary Immunology An Introduction, 4th. ed. W.B Sounders Co, 1992,Philadelphia, USA

Tsiotu AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J. Septic shock;current pathogenetic concepts from a clinical perspective, Med Sci Monit, 2005,11,3,76-85

Turgut B, Vural Ö, Demir M, Kutlu K, Kayapınar R. Effect of pentoxifylline and indomethacin on rabbits with endotoxin induced disseminated intravascular coagulation (DIC) and comparison with heparin, Turk J. Hematol, 2006,23,1,37-46

Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis, Bahçıvanlar Basımsanayi,Konya, 2000, 157-158

Urieli-Shoval S, Linke RP, Matzner Y. Expression and function of serum amyloid A, amajor acute-phase protein in normal and disease states. Current Opinion in Hematology, 2000,7,64-69

Vincent JL, Abraham E. The last 100 years of sepsis, Am J Respir Crit Care Med, 2006,173, 256–263

Werling D, Sutter F, Arnold M, Kun G, Tooten PC, Gruys E, Kreuzer M, Langhans W. Characterisation of the acute phase response of heifers to a prolonged low dose infusion of lipopolysaccharide. Res Vet Sci, 1996,61,3,252-7

Worthley LIG. Schok:A review of pathophysiology and management PartII Critical Care and Resuscitation 2000,2,66-84

Wulff JC, Sale GE, Deeg HJ, Storb R. Nonspesific acid esterase activity as a marker for canine T-lymphocytes, Exp. Hematol., 1981,9,8, 85-870

Yang TJ, Jantzen PA, Williams LF. Acid α-naphthyl acetate esterase: precence of activity in bovine and human T- and B lymphocytes, Immunology, 1979,38, 85-93

Yaşar MA, Ödeş R, Kizirgil A, Üstündağ B, Yaşar D, Bulut Y, Demirel İ. Sepsis oluşturulan ratlarda kan glukoz düzeyinin mortaliteye etkisi, Fırat Tıp Dergisi, 2007,12,1,1-4

Yazar E, Çöl R, Uney K, Atalay B, Elmas M, Tras B. Effect of pentoxifyline on biochemical parameters in endotoxaemic New Zealand White rabbits Bull Vet Ins Pulawy 2004a,48,297-299

Yazar E, Çöl R, Konyalıoglu S, Birdane YO, Elmas M, Bas AL. Effect of vitamin E and prednisolone on biochemical parameters in endotoxaemic New Zealand White rabbits Bull Vet Ins Pulawy 2004b,48,105-108

Yazar E, Er A, Uney K, Altunok V, Elmas M. Effect of flunixin meglumine on cytokine levels in experimental endotoxemia in mice, Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine, 2007,54,7,352-355

Yeğenağa I. Sepsis ve akut böbrek yetmezliğinde hemodinamik ve patofizyolojik değişiklikler, Türk nefroloji diyaliz ve transplantasyon dergisi, 2006,15,25-34

Yılmaz B. Fizyoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık, Ankara,1984, 168-180

Yoshioka M, Watanabe A, Shimada N, Muratha H, Yokomizo Y, Nakajima Y. Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in primary cultured bovine hepatocytes. Domestic Animal Endocrinology, 2002,234,425-433

Yörük M, Aştı RN, Kurtdede N, Ağaoğlu Z, Altunay H. Light and electron microscopic studies on alpha-naphthyl acetate esterase activity of the peripheral blood T-lymphocytes in Van cat, Anat. Histol. Embryol., 1998,27,5, 289-292

9.ÖZGEÇMİŞ

26.08.1977 tarihinde Sivas'ta doğdu. İlk ve orta eğitimini Sivas'ta tamamladıktan sonra Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2001 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD'na araştırma görevlisi olarak atandı. 2003 yılında S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsünde doktora eğitimine başladı.