T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİROFİLARİOSİSLİ KÖPEKLERDE SERUM TOTAL VE LİPİDE BAĞLI SİALİK ASİT İLE HEMATOLOJİK-BİYOKİMYASAL PARAMETRE DÜZEYLERİ

Hemşire Hasan KESİCİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yeter DEĞER

2. DANIŞMAN
Doç. Dr. Bekir OĞUZ

VAN–2020

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİROFİLARİOSİSLİ KÖPEKLERDE SERUM TOTAL VE LİPİDE BAĞLI SİALİK ASİT İLE HEMATOLOJİK-BİYOKİMYASAL PARAMETRE DÜZEYLERİ

Hemşire Hasan KESİCİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yeter DEĞER

2. DANIŞMAN
Doç. Dr. Bekir OĞUZ

VAN–2020

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2019-8057 no'lu proje ile desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Hasan KESİCİ tarafından hazırlanan "Dirofilarioisli Köpeklerde Serum Total ve Lipide Bağlı Sialik Asit ile Hematolojik-Biyokimyasal Parametre Düzeyleri" isimli tez çalışması aşağıda belirtilen jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak **OY BİRLİĞİ** ile **KABUL** edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 03.07.2020

Prof. Dr. Nihat MERT
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Yeter DEĞER
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN
Bitlis Eren Üniversitesi
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Semiha DEDE
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum *"Dirofilariosisli Köpeklerde Serum Total ve Lipide Bağlı Sialik Asit ile Hematolojik-Biyokimyasal Parametre Düzeyleri"* başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Hasan KESİCİ
Tarih: 03.07.2020
İmza:

TEŞEKKÜR

Çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde yol gösteren, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Danışman Hocalarım Prof. Dr. Yeter DEĞER'e ve Doç. Dr. Bekir OĞUZ'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Yüksek Lisans eğitimim sırasındaki değerli katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nihat MERT'e, diğer öğretim üyesi hocalarıma ve laboratuvar aşamasındaki katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Uğur ÖZDEK'e teşekkür ederim. Ayrıca bu araştırmanın gerçekleşmesi için maddi destek sağlayan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve beni bu günlere getiren aileme teşekkür etmeyi zevkli bir borç bilirim.

ÖZET

Kesici H. Dirofilariosisli Köpeklerde Serum Total ve Lipide Bağlı Sialik Asit ile Hematolojik-Biyokimyasal Parametre Düzeyleri. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2020. Bu çalışma doğal olarak *Dirofilaria immitis* ile enfekte köpeklerde, serum total sialik asit (TSA) ve lipide-bağlı sialik asit (LSA) ile hematolojik-biyokimyasal parametrelerde meydana gelecek değişiklikleri araştırmak için planlandı. Klinik ve parazitolojik olarak (Modifiye Knott ve PCR) *Dirofilaria immitis* tanısı konulan 7 adet köpek hasta grubunu, 7 adet sağlıklı köpekte kontrol grubunu oluşturdu. Tüm hayvanlardan usulüne uygun olarak alınan kan örneklerinde biyokimyasal parametreler modüler oto analizör cihazında, kan gazı parametre ölçümleri kan gazı analizör cihazında, hematolojk parametre ölçümleri otomatik kan sayım cihazında yapıldı. Serum TSA ve LSA düzeyleri ise sırasıyla Sydow ve Katapodis metotları ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. Sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında dirofilariosisli köpeklerde, serum troponin, trigliserit, VLDL, LDL, BUN, üre ve kreatinin seviyeleri ile CK-MB, ALT, AST, ALP ve LDH enzim aktivitelerinde önemli düzeyde yükselme, kolesterol ve HDL seviyelerinde ise önemli düzeyde azalma olduğu bulundu ($p<0.05$). Total protein ve total bilirubin seviyeleri ile CK enzim aktivitesindeki artışın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Dirofilariosisli köpeklerde RBC seviyesinde önemli düzeyde azalma, WBC seviyesinde ise önemli düzeyde yükselme olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Hct ve Hb seviyelerindeki azalmanın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Dirofilariosisli köpeklerde diferansiyel kan tablosuna bakıldığında, eozinofil sayısında önemli düzeyde yükselme olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Nötrofil ve bazofil sayılarındaki artış ile lenfosit ve monosit sayılarındaki azalmanın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Dirofilariosisli köpeklerde, venöz kan gazı parametrelerinden, pCO_2, HCO_3 ve BE seviyelerindeki azalmanın önemli olduğu tespit edildi ($p<0.05$). pH ve pO_2 seviyelerindeki azalmanın anlamlı olmadığı bulundu ($p>0.05$). Dirofilariosisli köpeklerde serum TSA ve LSA seviyelerinin sağlıklı gruba göre önemli derecede yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Sonuç olarak; dirofilariosisli köpeklerde sialik asit düzeylerinde, bazı biyokimyasal, venöz kan gazı ve hematolojik parametrelerde istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu belirlendi. Bununla birlikte dirofilariosisli köpeklerde serum sialik asit seviyelerinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: : Köpek, Dirofilariosis, Sialik asit, PCR

ABSTRACT

Kesici H. The Serum Total and Lipid-Bound Sialic Acid with Hematological-Biochemical Parameter Levels in Dogs with Dirofilariosis. Van Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Master Thesis, Van, 2020.
The present study was planned to investigate the potential changes in the levels of serum total sialic acid (TSA), lipid-bound sialic acid (LSA) and hematological-biochemical parameters in the dogs naturally infected by *Dirofilaria immitis*. The patient group included the 7 dogs clinically and parasitologically (Modified Knott and PCR) diagnosed with *Dirofilaria immitis* while 7 healthy dogs were assigned as the control group. The biochemical parameters, blood gas parameters and hematological parameters were tested in the blood samples taken properly according to the guidelines from all the study animals using modular auto-analyser, blood gas analyser and automated blood count devices, respectively. Serum TSA and LSA levels were measured spectrophotometrically using Sydow and Katapodis methods, respectively. Compared with the healthy group, the dogs diagnosed with dirofilariosis were found to have significantly increased levels of serum troponin, triglycerides, VLDL, LDL, BUN, urea and creatinine and enzymatic activities of CK-MB, ALT, AST, ALP and LDH, and statistically significantly decreased levels of cholesterol and HDL ($p<0.05$). The increases in levels of total protein and total bilirubin, and enzymatic activity of CK were found statistically insignificant ($p>0.05$). A significantly decreased level of RBC and a significantly increased level of WBC was determined in the dogs with dirofilariosis ($p<0.05$). The decreases in the levels of Hct and Hb were found statistically insignificant ($p>0.05$). The differential blood count test of the dogs with dirofilariosis indicated statistically significantly increased eosinophil count ($p<0.05$). The increases in the neutrophil and basophil counts, and the decreases in the lymphocyte and monocyte counts were detected to be statistically insignificant ($p>0.05$). In the dogs with dirofilariosis, the decreases in the levels of pCO_2, HCO_3 and BE as the venous blood gas parameters were detected to be statistically significant ($p<0.05$). The decreases in the levels of pH and pO_2 were determined to be insignificant ($p>0.05$). The levels of serum TSA and LSA of the dogs with dirofilariosis were found statistically significantly higher than the healthy group ($p<0.05$). As a conclusion, statistically significant differences were identified between the dogs with dirofilariosis and healthy dogs in terms of sialic acid levels and certain biochemical, venous blood gas and hematological parameters. On the other hand, the present study is the first to investigate the serum sialic acid levels in the dogs with dirofilariosis.

Key Words: Dog, Dirofilariosis, Sialic acid, PCR

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay……..... II

Etik Beyan……. III

Teşekkür…… IV

Özet……... V

Abstract……. VI

İçindekiler……. VII

Simgeler ve Kısaltmalar…… IX

Şekiller Listesi……..... X

Tablolar Listesi…….. XI

1. GİRİŞ…… 1

2. GENEL BİLGİLER…….. 2

2.1. Dirofilariosis……..... 2

2.1.1. Etiyoloji ve patogenez ……..... 2

2.1.2. Klinik ve laboratuvar bulguları …….. 4

2.1.3. Tanı ve tedavi ……. 5

2.2. Biyokimyasal Parametreler……..... 7

2.3. Hematolojik Parametreler…….. 11

2.4. Kan Gazları……..……. 13

2.5. Sialik Asit……... 13

2.5.1. Sialik asitin yapısı……... 13

2.5.2. Sialik asitin metabolizması…….. 15

2.5.3. Sialik asitin fonksiyonu……... 17

2.6. Lipide Bağlı Sialik Asit……. 18

3. GEREÇ ve YÖNTEM……..... 19

3.1. Gereç…….. 19

3.1.1. Canlı materyal……. 19

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler …… 19

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler …… 20

3.2. Yöntem…… 20

3.2.1. Kan örneklerinin alınması……... 20

3.2.2. Parazitolojik analizler…….. 20

3.2.3. Biyokimyasal ve hematolojik analizler……... 22

3.2.4. Total sialik asit (TSA) seviye tespiti……... 23

3.2.5. Lipide bağlı sialik asit (LSA) seviye tespiti…… 25

3.2.6. İstatiksel analiz…… 27

4. BULGULAR……. 28

5. TARTIŞMA VE SONUÇ……. 33

KAYNAKLAR……. 46

ÖZGEÇMİŞ…….. 51

EKLER..... 52

EK 1. Etik Kurul Raporu……..... 52

EK 2. Tez Orijinallik Raporu……..... 53

SİMGELER VE KISALTMALAR

LSA **:** Lipide bağlı sialik asit

TSA **:** Total sialik asit

PSA **:** Proteine bağlı sialik asit

ALT **:** Alanin aminotransferaz

AST **:** Aspartat aminotransferaz

ALP **:** Alkalen fosfataz

CK **:** Kreatin kinaz

LDH **:** Laktat dehidrogenaz

BUN **:** Kan üre nitrojeni

HB **:** Hemoglobin

HCT **:** Hematokrit

$HC0_3^-$ **:** Bikarbonat

BE **:** Baz açığı

UTP **:** Üridin trifosfat

NANA **:** N-asetil nöraminik asit

SA **:** Sialik asit

Pİ **:** İnorganik fosfat

CTP **:** Sitidin trifosfat

GalNAc **:** N-asetilgalaktozamin

RES **:** Retikülоendotelyal sistem

PCR **:** Polimeraz zincir reaksiyonu

VLDL **:** Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

LDL **:** Düşük yoğunluklu lipoprotein

HDL **:** Yüksek yoğunluklu lipoprotein

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. *Dirofilaria immitis* mikrofiler görünümü ……. 3

Şekil 2. *Dirofilaria immitis'in* biyolojik siklusu …… 5

Şekil 3. Sialik asitin molekül yapısı …….. 14

Şekil 4. Sialik asit ve glikoprotein sentezi ……..... 17

Şekil 5. Çalışmada kullanılan *Dirofilaria immitis* end-point PCR kiti …….. 21

Şekil 6. Total sialik asit standart grafiği……. 25

Şekil 7. Lipide bağlı sialik asit standart grafiği …… 27

Şekil 8. Mikrofilerin mikroskobik görüntüsü …… 28

Şekil 9. *Dirofilaria immitis* izolatlarının PCR sonrası jel elektroforez görünümü 29

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Total sialik asit seviye ölçümü ……. 24

Tablo 2. Lipide bağlı sialik asit seviye ölçümü …….. 26

Tablo 3. Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun biyokimyasal parametre düzeyleri….. 30

Tablo 4. Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun hematolojik parametre düzeyleri……. 31

Tablo 5. Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun venöz kan gazları parametre düzeyleri…… 31

Tablo 6. Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun serum total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri…… 32

1. GİRİŞ

Dirofilariosis, *Dirofilaria immitis* veya *D. repens* tarafından oluşturulan karnivorlarda özellikle köpeklerde ciddi sistemik bozukluklara neden olan bir nematod hastalığıdır.

D. immitis'in erişkinleri konakçıda, kalbin sağ ventrikuluna, pulmoner arterlere, sağ atrium ve vena cava'ya yerleşir. Mikrofilerleri perifer kanda bulunur. Dirofilariosisli köpeklerin sağ ventrikülünde aşırı yük artışı, konjestif kalp yetmezliği, özellikle karaciğer, böbrek gibi organlarda fonksiyon bozuklukları ilc çeşitli derecelerde pulmoner embolizm ve pulmoner hipertansiyona sebep olur.

Sialik asit (SA), nöraminik asidin açillenmiş türevlerine verilen genel bir isimdir. N-asetil nöraminik asit (NANA) sialik asitlerin en yaygın olanıdır. SA'lar, glikoproteinler, glikolipitler ve proteoglikanların oligosakkarit ünitelerinin terminal kompanenti olarak bulunur. Total sialik asit (TSA) lipide bağlı (lipide bağlı sialik asit, LSA) ve proteine bağlı (proteine bağlı sialik asit, PSA) olmak üzere başıca iki fraksiyondan oluşur. Serum SA seviyelerinde meydana gelen değişiklikler hücre ya da dokularda meydana gelen hasarı ortaya koyar. Bu değişikliklerin takip edilmesi birçok hastalığın tanı, ayırıcı tanı ve prognozunda faydalı bilgiler verir.

Köpeklerin bu en önemli kardiopulmoner hastalığının zoonoz olması nedeni ile enfekte köpeklerin belirlenerek eliminasyonu ve sağaltımlarının yapılması, insan ve köpek sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Ayarıca son yıllarda, evlerde köpek bakımının artış göstermesi insanlarda dirofilariosis görülme ihtimalini giderek artırmaktadır. Yapılan literatür taramasında dirofilariosisli köpeklerin TSA ve LSA düzeylerine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Bu çalışmada doğal olarak *D. immitis* ile enfekte köpeklerde, TSA, LSA, biyokimyasal, hematolojik ve kan gazı parametre seviyelerinde meydana gelecek değişiklikler değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dirofilariosis

2.1.1. Etiyoloji ve patogenez

Dirofilaira immitis, tropikal ve subtropikal iklime sahip bölgelerde daha çok görülen başta köpek ve kedi olmak üzere tilki, kurt ve nadiren insanlarda dirofilariosis hastalığına neden olan filarial nematodlardan biridir (Sarıtaş ve ark., 2005; Sevimli ve ark., 2007).

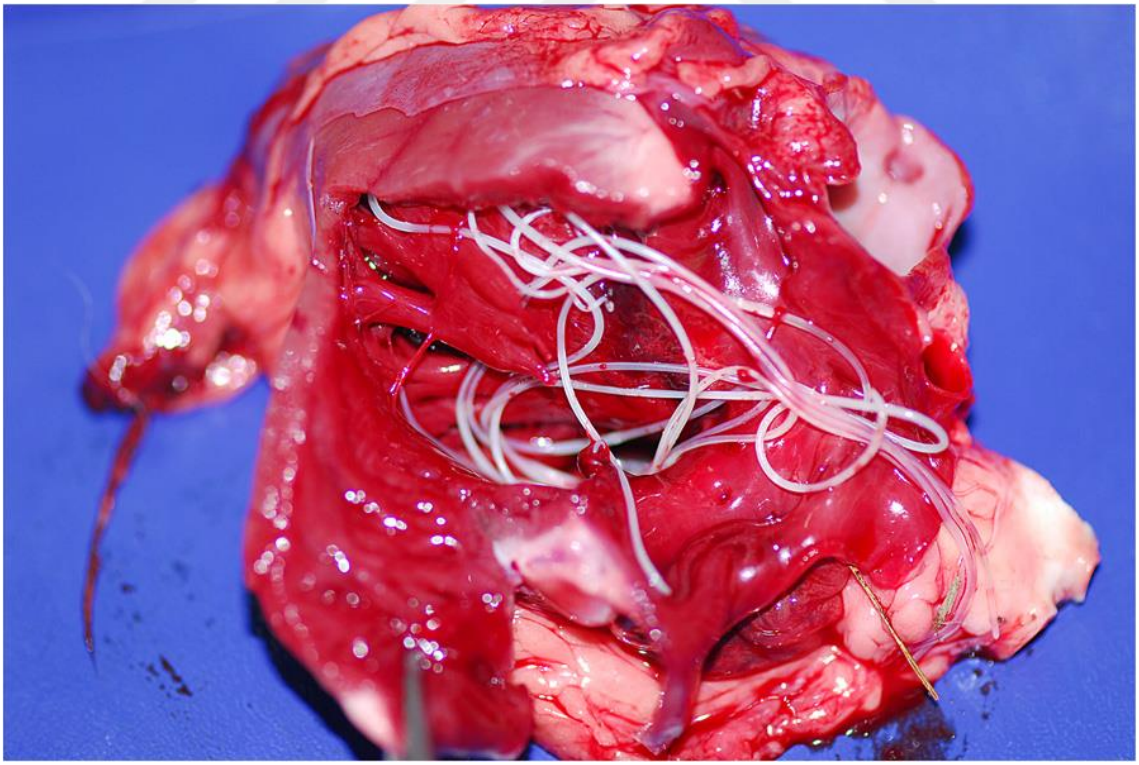
D. immitis'in ara konakları sivrisineklerdir. Bugün Aedes, Anopheles, Culex, Mansonia ve Psorophora cinslerine bağlı 70'in üzerinde sivrisinek türü bu parazitin potansiyel vektörüdür (Taşçı ve Kılıç, 2012).

Erişkin parazit erkekleri 12-20 cm uzunlukta ve 07-09 mm genişliktedir. Arka uç spiral şeklinde kıvrıktır. Erişkin parazit dişileri ise 25-31 cm uzunluğunda 1-1.3 mm genişliğindedir. Arka uç küt olarak sonlanır. Dişi parazitlerin ürettiği mikrofilerler yaklaşık 205-280 µ uzunluğundadır. Erişkin parazit kalp ve yakın kan damarlarında yaşar. Öncelikli olarak karnivorlarda kalbin sağ ventrikülü, arteria pulmonalis ve vena cava'ya yerleşirken, mikrofilerleri ise kanda bulunur. Dişi parazitler mikrofilerlerini direkt kan dolaşımına salar. Bu mikrofilerler, kalp damarlarında uzun süre canlı kalabilirler. Dişi sivrisinek beslenme esnasında enfekte hayvanlardan mikrofilerleri alırlar. Bir gün içerisinde sivrisineğin malpigi kanallarına ulaşan mikrofilerler yaklaşık 2 hafta içerisinde L3 (larva 3) olurlar. Sivirisinek kan emmek için başka bir konağa geldiğinde ağız organelinde bulunan larva yeni konağa geçer. Köpekte subkutan ya da subserozal dokulara göç eden L3 birkaç ay içinde iki gömlek değiştirir. Son gömleği değiştiren genç *D. immitis* venöz dolaşımla kalbe gelir. Minimum prepatent süre yaklaşık 6 aydır. Erişkin parazit konakta uzun süre canlı kalır, patent süre 5 yıldan fazladır (Fırat ve ark., 2005; Taylor ve ark., 2007).

Ağır enfekte köpekler genellikle halsizdir, kondisyonlarında büyük kayıplar ve egzersiz intolerans görülür. Kanlı kronik ve yumuşak bir öksürük görülür, hastalığın ileri safhalarında dispne ile ilgili ödem ve asites gelişebilir. Kırktan fazla parazitle

enfekte köpekte hemoglobinüri, sarılık ve kollaps ile karakterizedir. Köpeklerde hafif enfeksiyonlarda kısa mesafeli performans hareketlerinde solunum güçlüğü görülür (Meral ve ark., 2007; Taylor ve ark., 2007).

Kardiyovasküler dirofilariosiste ilk lezyonlara enfeksiyonu takiben 3. ayda akciğer loplarının kaudalinde yer alan arterlerde rastlanır. Canlı parazitin varlığı akciğer arterlerinde subendoteliyal ödeme sebep olur. Akciğer paranşiminde granulomatöz yangı odakları şekillenir. Bu odaklarda daha sonra fibrozis gelişir. Dolaşım ve akciğerlerdeki değişikler sonucunda kalbin sağ tarafında genişleme ve hipertrofi ile birlikte ‘’cor pulmonale’’ şekillenir. Cor pulmonale; akciğere bağlı gelişen pulmoner arteryal hipertansiyona yanıt olarak meydana gelen kalpte sağ ventrikül genişlemesi ve sağ ventrikül yetmezliğidir. Kronik enfeksiyon esnasında venöz durgunluk, karaciğer fibrozu ve asites görülür. Bazı enfekte hayvanlarda şekillenen immun kompleksler kan dolaşımı yoluyla böbreğe ulaşır, böbrekte bazal membranda hasara sebep olarak granulopati oluşturur. Bu durum sonucunda proteinemi, kronik interstisyel nefritis ve amyloidosis oluş (Doğanay ve ark., 2018).



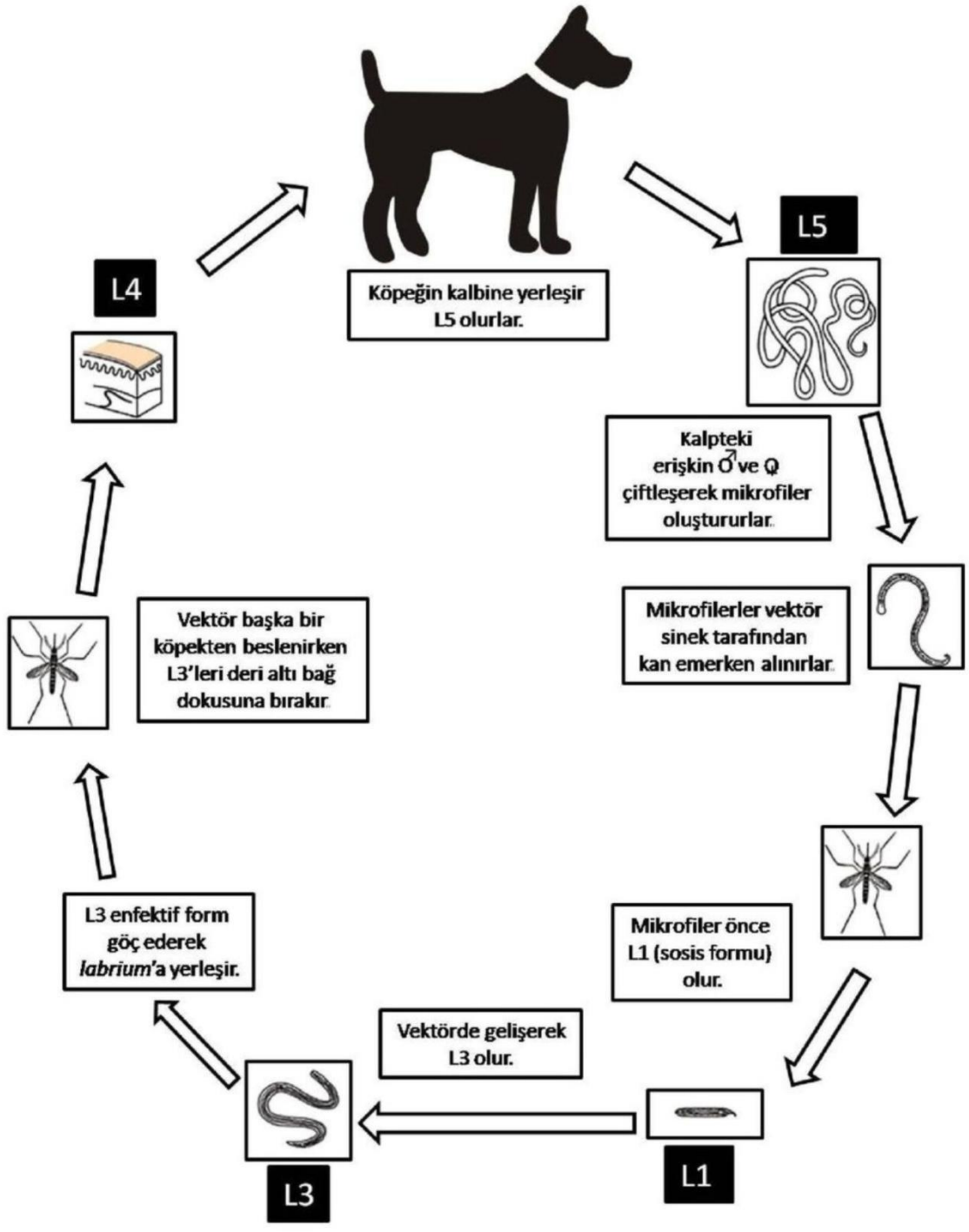
Şekil 1. *Dirofilaria immitis* mikrofiler görünümü (Ionică ve ark., 2016)

2.1.2. Klinik ve laboratuvar bulguları

Kalp kurdu enfeksiyonu olan köpeklerin çoğu asemptomatiktir. Bu hayvanlarda enfeksiyon, genellikle rutin taramada rastlantısal olarak belirlenir. Kalp kurdu hastalığı, kalp kurdu enfestasyonunun pulmoner arterlerde, sağ kalpte ve vena cava'da bulunması sonucu pnömoni, pulmoner endarteritis, pulmoner hipertansiyon, pulmoner tromboembolizm ve cor pulmonale oluşumu ile karakterizedir. Sağ kalp yetmezliği ve kaval sendrom 5 yaşından büyük köpeklerde gözlenir (Doğanay ve ark., 2018).

Gözlenen klinik belirtiler hastalığın şiddetine ve enfeksiyon süresine bağlıdır. Anamnezde kilo kaybı, egzersiz intoleransı, uyuşukluk, kötü vücut kondüsyonu, öksürük, solunum güçlüğü, sinkop ve asites olduğu bilgisi alınır. Pulmoner hipertansiyon oluşmuş şiddetli kalp kurdu enfeksiyonu varsa fiziksel muayenede bölünmüş ikincil kalp sesi, sağ yan kalp üfürümü ve bir kardiyak gallop belirlenebilir (Taylor ve ark., 2007). Sağ taraflı konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda juguler venöz distansiyon veya nabız, hepatoşiplenomegali ve asites mevcut olabilir. Trikuspit kapak yetmezliğine bağlı olarak sistolik üfürümler işitilebilir. Pulmoner belirtiler arasında öksürük, nefes darlığı, siyanoz ve kan tükürme sayılabilir. Kaval sendrom gelişmiş olgularda ani halsizlik, iştahsızlık ve hemolitik kriz belirlenir (Atkins, 2005).

Kalp kurdu enfeksiyonunda görülebilecek hematolojik değişiklikler, nonrejeneratif anemi, nötrofili, eozinofili, bazofili ve trombositopenidir. Karaciğer enzimlerinde artış, enfeksiyonun şiddetli seyrettiği hastalarda azotemi ile hiperbilirubinemi ve albuminüri görülebilir (Atkins, 2005; Taylor ve ark., 2007).



Şekil 2. *Dirofilaria immitis*'in biyolojik siklusu (Sarali, 2009).

2.1.3.Tanı ve tedavi

Kalp kurdu enfeksiyonu, klinik belirtiler gelişmeden önce yapılan rutin tarama yöntemleri ile teşhis edilebilir ki bu testler kanda direk mikrofilerlerin aranması ya da kan, serum veya plazmada antijen varlığının belirlenmesidir. ELISA kullanılarak

yapılan antijen testi, kalp kurdu enfeksiyonunun teşhisi için tercih edilen yöntemdir. Bu testler kullanımı kolay, yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Bununla birlikte, bu testler ilk 5 ile 8 aylık enfeksiyon sırasında, sadece erkek kurtlarla enfekte olan hayvanlarda veya birkaç dişi kurt ile enfekte olan hayvanlarda, yanlış negatif sonuç verebilir. Bazı ELISA'lar, olgun dişi kurtlar tarafından üretilen antijen konsantrasyonuna dayanan kurt yükünü ölçmek için tasarlanmıştır, ancak kurtların çoğu erkekse veya kurtların ölümüne bağlı olarak antijen seviyeleri yükselirse yanlış sonuçlar da verebilir (Atkins, 2005; Meral ve ark., 2007).

Smear incelemesi mikrofilerleri tespit etmede kullanılan bir yöntemdir. Hayvanlar çeşitli nedenlere bağlı olarak amikrofileremik olurlarki bu nedenler arasında önceden kalp kurduna karşı ilaç kullanılması, tek cinsiyet enfeksiyonları, prepatent enfeksiyonlar ve mikrofilerlerin immun aracılıklı harabiyetleri bu nedenler arasında sayılabilir. Enfeksiyon gizli olduğunda, dolaşımdaki mikrofilerlerin sayısı düşükse veya yetersiz miktarda kan incelendiğinde bu yöntemle yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir (Atkins, 2005).

Torasik radyografi tek başına kalp kurdu enfeksiyonunun tanısı için yeterli olmamakla beraber, hastalığın şiddeti ve kardiyopulmoner paranşimal değişikliklerin belirlenmesi için yararlıdır. Kaudal pulmoner arterler en fazla etkilenen kısımlardır. Dilate ve küt kaudal lobar pulmoner damarların görüntülenmesi kalp kurdu hastalığı için karakteristiktir. Radyografik değişiklikler geçicidir ve hiçbir zaman aktif enfeksiyonu göstermez. Ekokardiyografi, kurt yoğunluğunun tahmini, triküspid regürgitasyonun ve pulmoner hipertansiyonun varlığını belirlemek için yararlı olabilmektedir. Elektrokardiyografi aritmileri tespit etmek için kullanılır (Atkins, 2005; Meral ve ark., 2007).

Ergin *D. immitis*'lerin elimine edilmesinden sonra mikrofilerler uzun zaman kanda kaldıklarından tedavide erginlere etkili bir ilaç kullanıldıktan sonra mikrofilerlere de etkili bir ilacın da kullanılması gerekmektedir. Ergin parazitlere karşı arsenik bileşikleri kullanılmaktadır (tiatersamid, arsenamid, diklofenarsin hidroklorid, ksofenarsin hidroklorid ve melarsoprol gibi). Mikrofilerlerine karşı kullanılan ilaçlar levamizol, dietilkarbamazin, ivermektin ve milbemisin oksimdir (Fırat ve ark., 2005; Taylor ve ark., 2007).

2.2. Biyokimyasal Parametreler

Troponin: Troponin kalp ve iskelet kası liflerinde bulunan yapısal bir proteindir. Troponin, troponin T (TnT), I (TnI) ve C (TnC) olmak üzere üç farklı komleksten oluşur. Troponinler aktin ve miyozin proteinlerini uyararak kalbin kasılmasına neden olurlar. Kardiyak troponin T (cTnT) ve kardiyak troponin I (cTnI) kalbe özgü troponinlerdir. Kardiyak troponinler hassas ve spesifik kalp kası hasar belirteçleridir (Sheehan ve Vasikaran, 2001). cTnI tek bir aminoasit zincirine sahiptir ve kalp için spesfiktir. cTnI aynı zamanda infarktüslerin ileri dönemleri veya kardiyak hücre ölümleri içinde prognostik bir göstergedir. Bilhassa kardiyak işeminin, kardiyak kontüzyon ve düzensiz angina pektorisin spesfik bir belirleyicisidir (Morow ve ark., 2000; Sheehan ve Vasikaran, 2001).

Kreatin kinaz (CK, E.C.2.7.3.2): Kreatin kinaz kreatin ile ATP arasında reversibl olarak fosfat transferini sağlar. Bu reaksiyon kas kasılması için gerekli olan enerjiyi üretir. CK, beyin, kalp kası ve iskelet kasında yüksek konsantrasyonda bulunur. İki dimerden oluşur: M (kas) ve B (beyin). İzoenzim CK-MM başlıca iskelet kası ve kalp, izoenzim CK-BB beyin, akciğer ve bazı dokular, izoenzim CK-MB kalp kası, çeşitli dokular ve iskelet kasında bulunur . CK, hücresel nekrozis belirteçlerinden biridir ve iskelet kaslarındaki doku hasarı gibi klinik durumlarda iskelet kas hastalıklarının teşhisinde yaygın olarak kullanılır. CK-MB izoenzim ölçümüne miyokard infarktüsü (MI) ve inflamatuar iskelet kası hastalıklarının teşhisinde başvurulur (Karagül ve ark., 2000; Nagdyman ve ark., 2003).

Aspartat aminotransferaz (AST, EC.2.6.1.1): Aspartat aminotransferaz karaciğerde aspartik asit aminoasitinin amino grubunu α- ketoglutarata transferini sağlar. Enzim en yaygın olarak karaciğerde sonra miyokardiyal hücrede bulunur. Bu nedenle bu enzimin serum seviyeleri bu dokuların hasarında artar. AST seviyesindeki artış, hücre hasarı seviyesiyle orantılıdır ve bu nedenle hasar veya iyileşme sürecinin takibinde önemli bir parametredir. Serum AST düzeyleri miyokard infarktüsünü takiben 6-8 saat içinde önemli ölçüde artar ve 48-60 saat içinde en yüksek seviyelerine ulaşır (Gözükara, 1989; Karagül ve ark., 2000; Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

Alanin aminotransferaz (ALT, EC.2.6.1.2): Alanin aminotransferaz karaciğerde alanin aminoasitinin amino grubunu α- ketoglutarata transferini sağlar. Karaciğerde, kalp ve iskelet kasında yoğun olarak bulunur. ALT düzeyleri hepatit, tıkanma sarılığı ve siroz gibi karaciğer parankim hastalıklarının yanı sıra, kalp yetmezliği, akut miyokard infarktüsü, bazı perikardit ve miyokardit olguları ve kas distrofilerinde artar (Karagül ve ark., 2000; Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

Alkalen fosfataz (ALP, EC.3.1.3.1): Alkalen fosfataz fosfat esterlerinin hidrolizini sağlar. ALP organizmada yaygın bir şekilde bulunur ve en önemli kaynakları; osteoblastlar, hepatositlerin kanaliküler yüzü, biliyer epitelin lümene bakan tarafı, ince bağırsağın fırçamsı kenarı, böbrekte proksimal tübülüs, plasenta ve beyaz küredir. Serum ALP kaynağını, karaciğer, kemik ve ince bağırsaktan alır. Çocuklarda kemik büyümesinin bir sonucu olarak ALP düzeyi osteoid dokudan salınmasıyla 3 kat artabilir. Hamilelik sırasında, plasental ALP'nin kana geçişi sebebiyle 2 kat artar. Ayrıca erkeklerde çoğunlukla kadınlardan biraz daha yüksektir ve ALP düzeyi 60 yaş üzeri her iki cinste de eşit olur (Karagül ve ark., 2000; Uygun ve Polat, 2009).

Laktat dehidrogenaz (LDH, EC.1.1.1.27): Laktat dehidrogenaz pürivatın laktata reversibl olarak dönüşümünü sağlar. LDH, karaciğer, kalp, pankreas, böbrekler, iskelet kasları, beyin ve kan hücreleri dahil olmak çeşitli organ ve dokularda yaygın olarak bulunur. LDH, H ve M olmak üzere 2 farklı subüniteye sahip tetramerik yapıda bir sitoplazma enzimidir. LDH'nın elektroforetik olarak tespit edilmiş beş farklı izomeri vardır. Bunlar elektroforetik alanda anot tarafına göç durumlarına göre LD_1 (H_4), LD_2 (H_3M_1), LD_3 (H_2M_2), LD_4 (HM_3) ve LD_5 (H_4) olarak isimlendirilirler. Bu izoenzimlerin kan seviyelerinin artması bulundukları doku ve hücrelerin hasar gördüğüne işaret eder (Gözükara, 1989; Karagül ve ark., 2000).

Total protein: Plazma proteinlerinin (albümin, globülin, fibrinojen) hemen hemen tamamı hepatositlerde sentezlenir ve başlıca görevleri: kolloid ozmotik basıncının sağlanması, taşıma fonksiyonları, savunma reaksiyonları, koagülasyon ve fibrinolizisdir. Kan proteinlerinin miktarı, dağılımı, sentezi, yıkılımı ve atılımları pek çok klinik durumdan etkilenir. Anormal serum protein durumu, çeşitli hastalıkları tanımada bilgi verir. Total protein terimi kanda bulunan proteinlerin toplam miktarını ifade eder (Gözükara, 1989; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Total bilirubin: Retiküloendotelyal sistem (RES) tarafından eritrositlerin parçalanmasıyla hemoglobin oluşur. Hemoglobinin başlıca karaciğer, dalak ve kemik iliğinde parçalanması ile hem oluşur. Hem'in katabolizmasının sonucu olarak bilirubin açığa çıkar. Bilirubinin %75'i dolaşımdaki eritrositlerin parçalanmasından ve %25'i miyoglobulin, sitokrom, katalaz, siklooksijenaz, guanilsiklaz, nitroksit sentaz ve peroksidaz gibi diğer hemoproteinlerin parçalanmasıyla oluşur. Kimyasal olarak tetrapiroldür ve internal hidrojen bağı sebebiyle suda yüksek oranda çözünmez. Bilirubinin atılımı için karaciğerde suda çözünür duruma getirilmesi gerekir. Bu süreç birçok adım içerir. Bu basamaklardaki herhangi bir aksaklık hiperbilirubinemi ve sarılığa yola açabilir (Karagül ve ark., 2000; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Trigliserit: Trigliserit diyetin başlıca lipid bileşeni olup yağ asitlerinin önemli depolanma şeklidir. Diyet trigliserit ince bağırsaklarda monogliserid, yağ asitleri ve gliserole yıkılır. Bu ürünler emilir ve mukoza hücresinde yeniden trigliserit sentezinde kullanılır. Karaciğer, yağ asitleri ve gliserolden endojen trigliseritin sentezlendiği ana organdır. Sentezlenen trigliseritler VLDL ile plazmada yağ depolarına doğru taşınır. Plazma trigliserit seviyesi yaş, cinsiyet ve bilhassa diyete bağlı olarak farklılık gösterir (Champe ve Harvey, 1997; Karagül ve ark., 2000).

Kolesterol: Kolesterol insan safrasında yüksek miktarda bulunur. Kolesterol, vitamin D'nin, esterinin, safra asitlerinin ve steroid hormonların öncü maddesidir. Kolesterol karaciğer, adrenal korteks, bağırsak mukozası ve plazmada mevcut enzimler yardımıyla yağ asitleriyle esterleşir. Plazmada, lenfde, karaciğerde ve adrenal kortekste kolesterolün çoğu ester formunda bulunur. Kolesterol diyet kaynaklı olabildiği gibi karaciğer başta olmak üzere bağırsak, adrenal korteks ve beyinde Asetil CoA'dan sentezlenir (Gözükara, 1989; Karagül ve ark., 2000; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Lipoproteinler: Lipoproteinler lipid ve apolipoproteinlerden oluşan kompleks yapılardır. Lipoproteinler, suda çözünürlüğü düşük olan lipid moleküllerinin kanda taşınmasında görev alırlar. Lipoproteinlerin yogunluğu arttıkca protein içeriği artar ve molekül küçülür. Ultrasantrifüjdeki dansitelerine göre lipoproteinler, şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) şeklinde alt gruplara ayrılır (Gözükara, 1989; Karagül ve ark., 2000).

VLDL, karaciğerde sentezlenir ve trigliserid bakımından oldukça zengindir. Yapısında lipit oranının yüksek, protein oranının düşük olması nedeni ile yoğunluğu düşük olan lipoproteindir. Görevi karaciğerde sentezlenen trigliserid ve kolesterolü ekstrahepatik dokulara taşımaktır. VLDL'nin damar içinde katabolizması sonucu LDL sentezlenir. LDL kolesterol ve kolesterol esterlerinden zengin lipoproteindir. Görevi karaciğerde sentez edilen kolesterolü perifer dokulara taşınmaktır. Bu nedenle plazmadaki toplam kolesterolün %70'i LDL'de bulunur. LDL, aterosklerozun patogenezinde önemli role sahiptir. HDL karaciğer ve ince bağırsak duvarında sentezlenir. Görevi dokulardan karaciğere kolesterol taşımaktadır. Bu nedenle HDL antiaterojenik etkiye sahiptir (Gözükara, 1989; Karagül ve ark., 2000; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Üre: Protein metabolizmasının son ürünü olan amonyak, karaciğerde daha az toksik bir madde olan üreye dönüştürülür. Daha sonra üre kana aktarılarak böbreğe gönderilir. Böbrek glomerüllerinden filtre edilen üre'nin % 40'ı geri emilerek kana verilir, geri kalan kısmı idrar ile vücuttan uzaklaştırılır. Üre, atılan azotun % 80-90'nını oluşturur. Serumdaki üre miktarı BUN (kan üre azotu) olarak belirtilir (Mert, 1996; Champe ve Harvey, 1997; Atasoy, 2008).

Kreatinin: Aminoasit türevi olan kreatin iskelet kası başta olmak üzere kalp, beyin ve diğer dokularda enerji ihtiyacını karşılamak için kreatin fosfata dönüştürülür. Kreatinin kaslarda kreatin fosfatın yıkım ürünüdür. Kreatinin üretimi vücut ve kas kitlesine bağlıdır. Kreatinin başlıca atılım yolu böbreklerdir ve böbrek fonksiyonun degerlendirilmeside kullanılan bir parametredir. Serum kreatinin oranı yaşa, ırka ve cinsiyete göre farklılık gösterir (Gözükara, 1989; Mert, 1996; Atasoy, 2008).

Kan üre azotu (BUN): Böbreklerin normal çalışması durumunda vucut için toksik olan üre azotu idrar ile dışarı atılır. Böylece daima kanda sabit bir üre azotu bulunur. Böbreklerin sağlıklı çalışmaması durumunda ise üre kandan ayrıştırılamaz ve kanda yükselir. BUN, kanda sabit olarak bulunan üre azotunu ifade eder. BUN düzeyi ağır doku harabiyeti veya akut açlığa bağlı doku katabolizmasındaki artış gibi olgularda ve özellikle renal işlev bozukluğunda normalin üzerine çıkabilir (Mert, 1996; Aronson, 2005; Atasoy, 2008).

2.3. Hematolojik Parametreler

Lökositler (Akyuvarlar, WBC): Lökositler organizmayı savunmakla görevli olan hücrelerdir. Lökositler kan frotisinde renksiz, parlak olarak ve protoplazmaları düzensiz parçacıklar şeklinde görülür. Hücre zarları yoktur. Sitoplazma ve çekirdekten oluşmuşlardır. Çekirdekli olduklarından oksijen kullanımları ve metabolizmaları fazladır. Lökositler kanın dışında lenfte, bezsel dokularda ve diğer bazı beden sıvılarında bulunur. Damarların içinde etkin olarak yer değiştirebilir ve endotel katını geçebilirler. Lökositler belli bir süre dolaştıktan sonra yabancı bir madde veya mikroorganizmayla karşılaşmazsa ya salgılar içine geçerek dışarı atılır ya da RES'de yıkıma uğrar. Bu yetenek organizmanın savunulmasında önemlidir. Dokularda yerel bir zedelenme oluştuğunda bedene yabancı bir madde ya da mikroorganizma girdiğinde, bu bölgeye yakın kılcal damar çeperine yapışarak sınırda yığınak yapmaları artar. Lökositler nötrifil, eozinofil, bazofil, lenfosit ve monosit olmak üzere beş çeşittir (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Nötrofiller: Yangının oluştuğu ilk evrede nötrofiller görev alır, kılcal damarlardan dışarı çıkar ve hücre aralıklarına girerek yangılı bölgeye ulaşırlar. Bakteriyi yutup sindirerek zararsız hale getirirler. Çekirdeklerinin tek veya parçalı olmasına göre, parçalı çekirdekli ve çubuk çekirdekli olmak üzere ikiye ayrılır. Enfeksiyöz hastalıklarda, ateşli hastalıklarda, maling tümörlerde, ani kanamalarda, kalp damarı trombozunda, eritrositlerin parçalanmasında ve operasyonları takiben her iki çeşit nötrofilin sayısı artar (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Eozinofiller: Bunların granülünde de nötrofillerdeki oluşumların ve nötrofil granülünde bulunan enzimlerin çoğu vardır. Paraziter hastalıklarda, alerji ve anafilaksi durumlarında, cilt hastalıklarında sayıları artar. Eozinofiller, zehirlerin toksik kısımlarının parçalanmasında görev alırlar. Organizmaya parenteral yolla dışarıdan giren ya da endojen olarak bedende oluşan yabancı proteinlerin zararsız duruma getirilmsinde de görev alırlar (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Bazofiller: Genel yapıları nötrofillere benzer. Hareketleri yavaştır. Karaciğer dışında bazofillerde de heparin yapılır. Bunlarda lizozom enzimlerinden bir bölümü bulunur ve granüllerinde histamin de vardır. Bazofil yüzeyinde immünglobulin E (IgE)

reseptörleri bulunur. IgE'nin reseptöre afinitesi yüksektir. IgE alerjik ve paraziter hastalıklarda konakçı savunmasında önemlidir. Vücuda alerji yapan bir antijen girdiğinde, bu antijene karşı özel olarak oluşan İgE'ler bu resptörlere bağlanır. Bunun sonucunda tüm sistemleri etkileyen biyolojik cevaplar oluşmaya başlar (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Lenfositler: Dolaşım kanında bulunan lenfositlerin çoğu eritrosit büyüklüğündedir. Fakat nötrofil kadar olanları da vardır. Bu nedenle küçük lenfositler ve büyük lenfositler olarak ikiye ayrılırlar. Lenfositlerin %85-90'nı küçük lenfositler, geri kalanı da büyük lenfositlerdir. Etkin biçimde hareket ederler. Edinsel bağışıklığı oluştururlar. Antikor oluşumunda ve organizmanın yabancı proteinlere karşı korunmasında görev alırlar. Canlı doku ve organ aktarımlarından sonra doku uyuşmazlığında ve ret olayında rol oynarlar. Süregen yangılarda akut enfeksiyonların iyileşme evresinde sayıları artar. Enfeksiyöz hastalıklarda başlangıçta sayılarında azalma (lenfopeni), sonra artma (lenfositoz) görülür. Lenfopeninin sürekliliği hastalığın kötüye gittiğini gösterir (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Monositler: Dolaşım kanındaki lökositlerin en büyüğüdür. Monositlerin kuvvetli amipsi hareketleri vardır. Kuvvetli fagositoz özellikleri nedeniyle makrofaj hücreler adını alırlar. Makrofajların lizozomları çok miktarda lipaz taşır. Bu hücreler bakterilerden ayrı olarak daha büyük doku atıklarını ve katı parçaları da fagosite ederler (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Eritrositler (Alyuvarlar, RBC): Kanın şekilli elemanlarının büyük bir bölümünü eritrositler oluşturur. Bileşimlerinde bulunan hemoglobin yardımıyla kana kırmızı rengini verirler. Taze kan frotisinde eritrositler, tek olduklarında yeşile bakan sarı renkli hücrelerdir. Eosin ve ornage gibi asit reaksiyonlu boyalara karşı ilgileri fazladır. Bu boyalarla, örneğin Giemsa ile pembe kırmızı renge boyanırlar. Ortalarında bulunan çukurluk nedeniyle kan frotilerinde merkezleri açık, kenarları daha koyu olarak boyanır. Eritrositlerin etkin hareketleri yoktur. Kan dolaşımıyla etkin olmayan biçimde yer değiştirirler. Yumuşak ve esnek olduklarından sıkıştırılabilirler ve dış etkilerle biçimleri kolaylıkla değişebilir. Bu özellikleriyle çaplarından çok daha küçük olan kılcal damarlardan geçebilirler (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Hemoglobin (Hb): Eritrositlerin işlevi yapılarındaki hemoglobin sayesinde olur. Hemoglobin kana kırmızı rengini veren protein yapısında pigmenttir. Hemoglobin demir taşıyan hem molekülü ile protein olan globin molekülünden oluşur. Hemoglobinin görevi, kanda akciğerlerden dokulara oksijen, dokulardan akciğerlere karbondioksit ve proton taşımaktır. Hemoglobinin yapısını oluşturan hemin karaciğerde parçalanması ile safra renkli maddeler oluşur (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Hemotokrit (Hct): Hematokrit kan hücrelerinin yüzde olarak hacminin belirlenmesine verilen addır. Hematokrit değer 100 ml kanda bulunan eritrositlerin ml olarak hacmini ifade eder. Anemi, plisitemi durumlarını tespit etmek için hematokrit değer saptanır. Hematokrit değeri plazma hacmine, kırmızı kan hücresi şekline ve büyüklüğüne bağlıdır. Kan sıvısının azaldığı durumlarda hematokrit değeri artar, arttığı durumlarda azalır (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

2.4. Kan Gazları

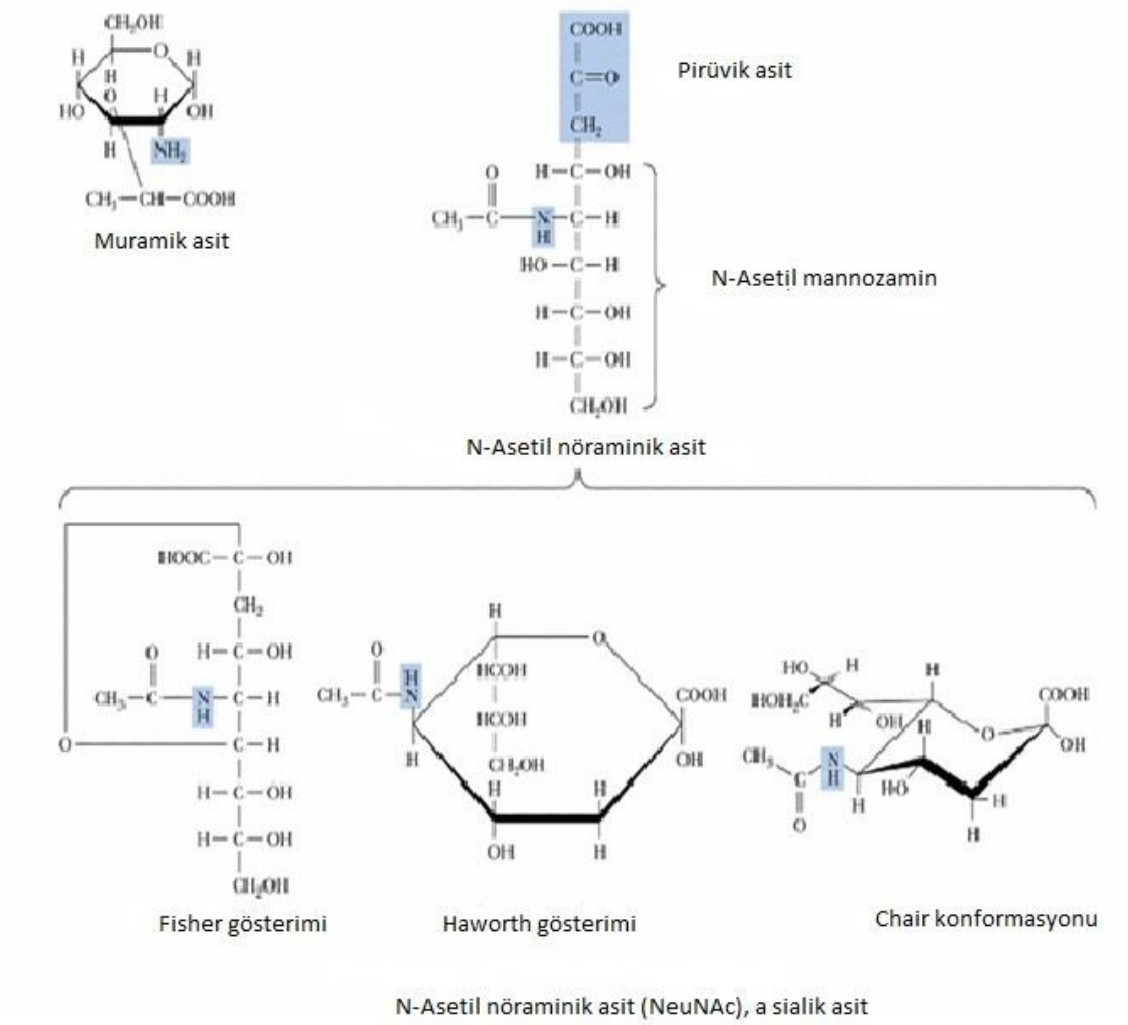
Kan gazı analizi, solunumsal bozukluklar hakkında bilgi almak için başvurulan bir test yöntemidir. Bu yöntem hastalarda mevcut, solunum sıkıntısı veya nefes darlığı durumlarında asit-baz dengesi bozukluğunun değerlendirilmesi ve gelişen bilinç bulanıklığı gibi patolojilerin nedenini açıklayabilmek için kullanılır. Kan gazının güvenilir şekilde yorumlanması için kan örneklerinin uygun bir şekilde alınması ve taşınması gerekir. Kan gazlarının analizleri kan gazı ölçüm cihazı ile yapılır. Bu cihazlarla pH, kısmi oksijen basıncı (PaO_2), parsiyel karbondioksit basıncı ($PaCO_2$), hassas elektrotlar kullanılarak belirlenirken; bikarbonat (HCO_3^-), baz açığı (BE) ve oksijen satürasyonu (SaO_2) hesaplanarak bulunur (Tosun ve Tutluoğlu, 2000).

2.5. Sialik Asit

2.5.1. Sialik asitin yapısı

Sialik asit (SA) ismi tükürük anlamına gelen yunanca “salos’’ kelimesinden türetilmiştir. SA için ana molekül nöraminik asit (Neu) dir. SA molekülü ilk kez 1930’ların sonunda dokuz karbonlu N-asetil nöraminik asitin (NANA) keşfiyle ortaya konmuştur. SA’nın isimlendirmesi ilk olarak 1957 yılında Blix ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Nöraminik asitin N ve O açil türevlerini içeren yapıları doğal biyolojik

materyalden izole edilmiştir. SA'nın serbest formlarının yapısı ve stereokimyasal özellikleri 1960'ların sonunda açıklanabilmiş ve bugüne kadar keşfedilen SA türevleri sürekli artış göstermiştir (Schauer ve Kamerling, 1997). Sialik asitler, hücre membranında glikoproteinlerin ve glikolipitlerin önemli bileşenlerinden olan, dokuz C'lu nöraminik asitin asetillenmiş türevleridir. İnsan dokularında bulunan ana SA türevi beşinci C' atomundan asetilenmiş NANA'dır (Surangkul ve ark., 2001).



Şekil 3: Sialik asitin molekül yapısı (Buschiazzo ve Alzari, 2008).

Sialik asitler genellikle kompleks karbonhidratların non-redüktan uçlarında yer alırlar. Glikoprotein ve glikolipit oligosakkarit yan zincirlerin terminal pozisyonlarında ve çok değişken sializasyon paternlerinde bulunurlar. Serbest SA'lar organizmada çok az bulunur. SA'lar genellikle proteinlere ve lipitlere bağlı oligosakkaritlerin terminal ucunda antitripsin, haptoglobulin, seruloplazmin, fibrinojen, kompleman proteinleri ve

transferinde bulunurlar. Genellikle dış ve iç lizozomal membranlarda karbonhidrat ana ve yan zincirlerinin terminal pozisyonunda ve C-2-OH yapısıyla bir sonraki sakkaritin (genellikle galaktoz, N-asetil galaktozamin ve sialik asitin kendisidir) C-3, C-4 veya C-6 kısmına bağlanır. Bu nedenle SA'lar hücreyle temasa giren biyokimyasal bileşikler veya diğer hücrelerin karşılaştığı ilk moleküllerdir (Kelm ve Schauer, 1997; Surangkul ve ark., 2001).

2.5.2. Sialik asitin metabolizması

Sialik asit sentezi sitozolde başlar. İlk sentezlenen molekül bir amino şekerdir ve amino şekerin öncüsü fruktoz-6-fosfat'tır. Azot atomları ise glutaminin amid grubundan gelir. Fruktoz-6-fosfat'a glutaminin amino grubu transfer edilerek glukozamin-6-fosfat meydana gelir. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim glutaminfruktoz-6-fosfat aminotransferazdır. Bu reaksiyon geri dönüşümsüzdür ve uridin difosfat (UDP)-N-asetilglukozamin tarafından inhibe edilir (Kelm ve Schauer, 1997; Surangkul ve ark., 2001).

Glukozamin-6-P, asetil-CoA ile reaksiyona girerek N-asetilglukozamin-6-P'yi oluşturur. Glukozamin-6-P bir mutaz enzimi etkisi ile N-asetilglukozamin-1- P'ye ya da epimeraz enzimi ile N-asetilmannozamin-6-P'ye dönüşür. Mutaz enzimi katalizörlüğünde oluşan N-asetilglukozamin–1-P, üridin trifosfat (UTP) varlığında UDP-N-asetilglukozamin fosforilaz enziminin etkisi ile UDP-N-asetilglukozamine dönüşür. Oluşan bu ürün, okside NAD^+ varlığında, UDP-N-asetilglukozamin epimeraz etkisiyle UDP-N-asetilgalaktozamine çevrilir. Bu yol daha sonra glukozaminoglikan ve glikoprotein sentezine doğru devam eder (Kelm ve Schauer, 1997; Surangkul ve ark., 2001).

Epimeraz enzimi etkisiyle N-asetilglukozamin-6-P'den oluşan N-asetilmannozamin-6-P, fosfoenolpiruvat ile aldol kondensasyonuna katılır ve NANA-9-P oluşur. Bu reaksiyon NANA aldolaz ile katalizlenir. Daha sonra N-asetilnöraminik asit-9-P hidrolizi ile NANA ve Pi meydana gelir. Oligosakkaritlere bağlanmadan önce NANA, sitidin trifosfat (CTP) ile aktifleşerek sitidin monofosfat (CMP)-NANA'yı meydana getirir. Bu reaksiyon N-asetilnöraminat-CMP pirofosforilaz tarafından

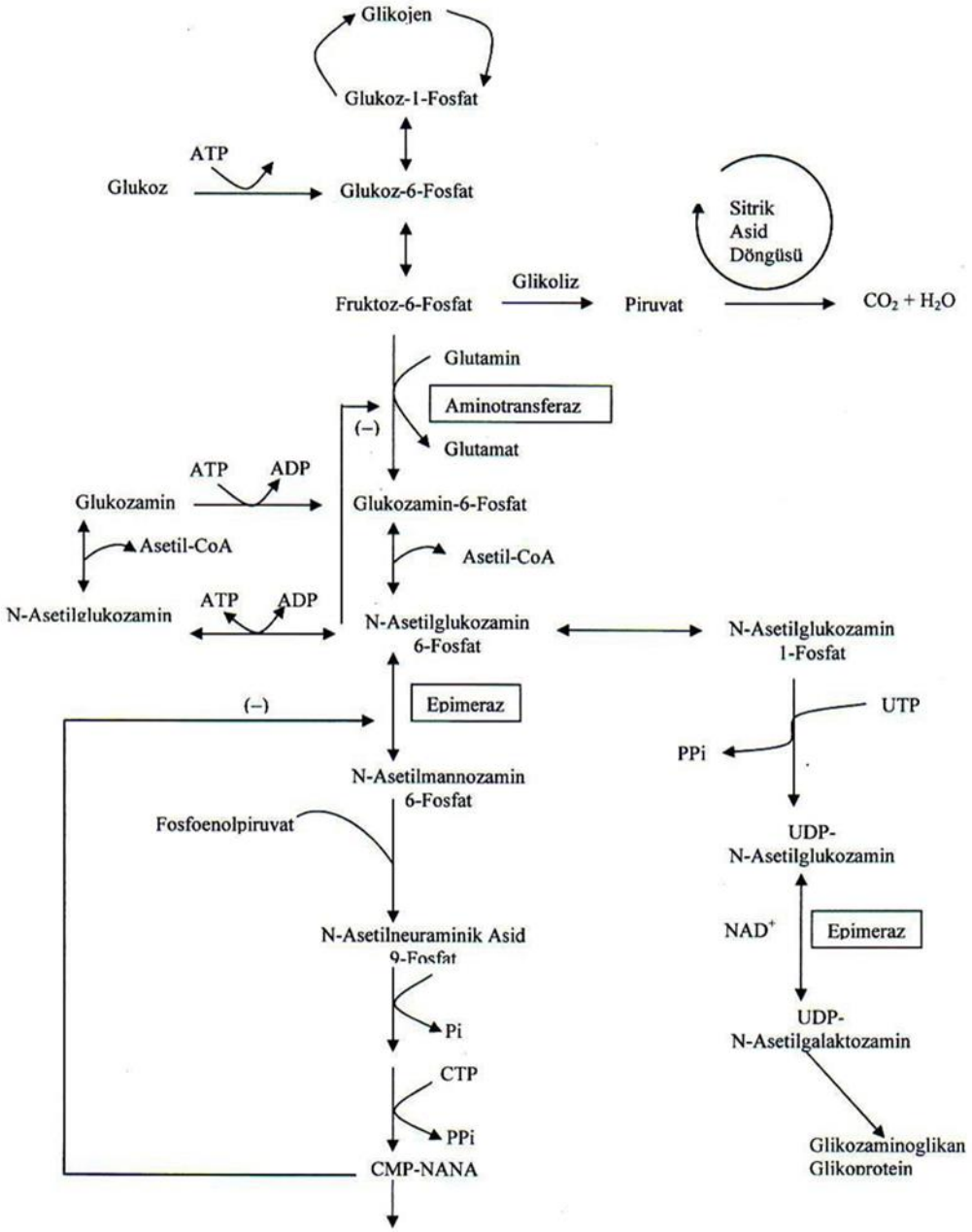
katalizlenir. Bu sırada bir mol PPi ayrılır (Kelm ve Schauer, 1997; Surangkul ve ark., 2001).

Sialik asit biyosentezinin kontrolü feedback inhibisyon mekanizması ile olur. Bu regülasyonda görevli katalizörler fruktoz-6-P aminotransferaz ve UDP-N-asetilglukozamin epimerazdır. CMP-NANA düzeyi arttığında, UDP-N-asetilglukozamin epimeraz enzimi inhibe olur, aynı şekilde UDP-N-asetilglukozamin düzeyi arttığında fruktoz-6-fosfat aminotransferaz aktivitesi azalır (Kelm ve Schauer, 1997).

Glikoproteinlerin sentezi sırasında sialik asit rezidü ilavesi golgide olur. CMP-sialik asit kompleksindeki SA kalıntılarının, asialoglikoproteinlere taşınmasını sialiltransferaz enzimleri gerçekleştirir. Bu enzimler glikoziltransferazlar grubuna dahildir ve monosakkaridleri glikoprotein veya glikolipid kalıntılarına eklerler. Glukokonjugatların spesifikliğine göre farklı enzim çeşitleri vardır ve transfer reaksiyonlarında farklı α-glikozidik bağ türleri oluşmaktadır (Kelm ve Schauer, 1997; Taşkın, 2017).

Hücrelerde glukokonjugatların terminal ucunda bulunan SA rezidü hidrolizini sialidaz enzimiyle gerçekleşir. Bu enzim, SA'nın katabolizmasında anahtardır ve memeliler gibi yüksek organizmaların yanı sıra protozoalar, virüsler ve bakteriler gibi basit organizmalarda da bulunur. Sialidaz enzimi, sialillenmiş glikokonjugatlardaki bağ tiplerine bağlı olarak; (2→3) bağlarını hızlı, (2→6) bağlarını daha yavaş hidroliz eder (Kelm ve Schauer, 1997).

Konjenital sialidaz enzimi eksikliğinde, hücre sitoplazmasında sialiloligosakkaritlerin birikmesiyle meydana gelen hücre hasarıyla karakterize olan ve özellikle santral sinir sistemi, retikülоendotelyal sistem ve iskelet sistemini tutan, otozomal resesif geçişli bir kalıtsal lizozomal depo hastalığı olan sialidozis ortaya çıkar (Taşkın, 2017).



Şekil 4: Sialik asit ve glikoprotein sentezi (Taşkın, 2017)

2.5.3. Sialik asitin fonksiyonu

Nöraminik asitin asetillenmiş veya glikozillenmiş türevi olan SA glikoprotein, mukoprotein, glikolipidlerin ve gangliozitlerin yapısında bulunan karbonhidrat birimlerinin non-redükte ucundaki terminal komponentdir. Bu bölgede genel subterminal şeker kalıntıları olarak galaktoz ve N-asetilgalaktozamin (GalNAc) de bulunur (Kelm ve Schauer, 1997; Surangkul ve ark., 2001).

Sialik asitlerin % 85-90 ‘lık büyük bir bölümü proteinlere bağlıdır ve proteine bağlı sialik asit (PSA) adını alır. Geri kalan % 10-15’lik kısım ise lipide bağlıdır ve lipide balı sialik asit (LSA) adını alır. Bu iki fraksiyon total sialik asiti (TSA) oluşturur (Laçin, 2001).

Sialik asitler antijenik özellik gösterirler. Örneğin kan grubu maddeleri, hormonlar ve sitokinler gibi birçok endojen maddeler için gerekli olan reseptörlerin önemli bir komponentidir. Bununla birlikte toksin (kolera toksini), virus (influenza), bakteri (*Escherichia coli, Helicobacter pylori*) ve protozoalar (*Trypanosoma cruzi*) gibi birçok patojenik ajanlar SA içeren reseptörler aracılığı ile konakçı hücresine bağlanırlar. Sialik asitler güçlü karboksil gruplarından dolayı hücre yüzeyine net negatif yük kazandırır, bu nedenle hücreler arasında görülen elektrostatik itmeden sorumludur. Sialik asitler, taşıdıkları negatif yük sayesinde hücre agregasyonunu önler. Ayrıca bu yük ile birlikte hücre membranının geçirgenliğini de sağlar (Kelm ve Schauer, 1997; Surangkul ve ark., 2001).

2.6. Lipide Bağlı Sialik Asit

Organizmada TSA’nın lipide bağlı fraksiyonuna lipide bağlı sialik asit (LSA) denir. Lipide bağlı fraksiyonu başlıca lipoproteinler [VLDL, LDL, HDL, ve Lp(a)] oluşturur. Miyokard infarktüsü (MI) geçiren hastalarda serum TSA ve/veya LSA düzeylerinde artış meydana gelir. MI’nın aterosklerotik koroner kalp hastalığı zemininde gelişmesi sebebiyle, akut miyokart infarktüslü hastalarda gözlenen serum SA düzeylerindeki artışa aterosklerotik değişikliklerin katkısı olduğu bildirilmiştir (Taşkın, 2017). Çeşitli kanser tiplerinde serum SA düzeylerinin arttığı, bu artışta SA metabolizmasındaki değişiklerin etkili olduğu belirtilmiştir (Laçin, 2001).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1.Canlı materyal

Bu çalışma, Van Büyükşehir Belediyesine bağlı Hayvan Bakım ve Rehabilitasyon Merkezine Mayıs-Ekim 2019 tarihleri arasında kısırlaştırma operasyonu için Van Merkez ve civar ilçelerden getirilen 4-5 yaşlarında 96 adet erkek sokak köpeği üzerinde yürütüldü. Parazitolojik ve klinik olarak dirofilariosis tanısı konulan 7 ve sağlıklı olduğu tespit edilen 7 olmak üzere toplam 14 köpek çalışmada kullanıldı.

Çalışma öncesi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 31.01.2019 tarih ve 2019/01 sayı ile onay alındı.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

Otomatik kan sayım cihazı (Melet Schloesing MS4 Vet)

Kan gazı analizör cihazı (ABL90 FLEX)

PCR cihazı (T100 BioRad, USA)

Hassas terazi (GeeAvery)

Soğutmalı santrüfüj (Universal 320R)

Derin dondurucu (Uğur)

Su banyosu (Nüve, BM 402)

Cobas Integra 800 otoanalizör (Roche)

Spektrofotometre (Boeco, Almanya)

Mikroskop

Heparinli tüp

Vakkumlu jelli tüp

Değişik hacimlerde otomatik pipet

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Dirofilaria immitis end-point PCR kiti (Norgenbiotek, EP44500)

Perklorik asit (Merck)

P-dimetilaminobenzaldehit (Sigma)

Hidroklorik asit (Merck)

N-asetil nöraminik asit (Sigma)

Rezorsinol (Sigma)

Bakır sülfat (Sigma)

Fosfotungistik asit (Sigma)

Kloroform (Merck)

Metanol (Merck)

Butil asetat (Sigma)

Butil alkol (Sigma)

3.2. Yöntem

3.2.1. Kan örneklerinin alınması

Köpeklerin vena cephalica antebrachium'undan yöntemine uygun olarak kan örnekleri, hematolojik ve parazitolojik muayeneler için 5 ml'lik heparinli tüplere, biyokimyasal analizler için 10 ml'lik jelli vakumlu biyokimya tüplerine ve kan gazları analizi için hazır heparinize kan gazı enjektörlerine alındı.

3.2.2. Parazitolojik analizler

Heparinli tüplere alınan kan örnekleri her birine protokol numarası verilerek aynı gün Modifiye Knott yöntemi ile incelendi. DNA ekstraksiyonu için heparinli kan örnekleri analizler yapılıncaya kadar derin dondurucuda (- 20^{o}C) saklandı.

Modifiye Knott tekniği:

Heparinli tüplere alınan kan örneğinden bir ml alınıp 9 ml % 2'lik formalin ile 10 ml' ye tamamlandıktan sonra 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek üstteki süpernatant kısmı atıldı. Kalan sediment eşit hacimde % 0,1'lik metilen mavisi ile karıştırıldı. Sedimentten alınan birkaç damla lam-lamel arasında mikroskop altında mikrofiler ölçüleri ile diğer morfolojik özellikleri yönünden incelendi (Gioia ve ark., 2010).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) :

Heparinli tüplere alınan kan örneğinden 125 µl alınıp üzerine 600 µl lysis buffer ve 20 µl Proteinase-K konulup 1 gece 56ºC'de bekletildikten sonra Fermentas Genomic DNA purification kit (MBI, Litvanya) ile total genomik DNA izolasyonu yapıldı. Daha sonra izolatlar *Dirofilaria immitis*'e spesifik primerler bulunan PCR kiti (NorgenBiotek, EP44500) kullanılarak PCR (T100 BioRad, USA) işlemine tabi tutuldu.



Şekil 5. Çalışmada kullanılan *Dirofilaria immitis* end-point PCR kiti

PCR karışımı 20 µl olacak şekilde hazırlandı ve içerisine her örneğin genomik DNA'sından 2.5 µl ayrıca 10 µl MDx 2X PCR Master Mix, 2 µl *D. immitis* Primer Mix ve 5.5 µl nüklease free su konuldu.

PCR şartları: 95°C'de 3 dk ön denatürasyon, 94°C'de 15 sn, 60°C'de 30 sn, 72°C'de 45 sn ve 72°C'de 5 dk son uzama aşamalarından oluşturuldu. PCR ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülüp ethidium bromide ile boyandıktan sonra UV transilluminatörde ve jel görüntüleme sisteminde görüntülendi. *D. immitis* spesifik PCR kiti ile 276 bp boyutunda bant profilleri pozitif olarak kabul edildi.

3.2.3. Biyokimyasal ve hematolojik analizler

Modifiye Knott yöntemi ve PCR tekniği ile *D. immitis* için seropozitif olan 7 ve seronegatif sağlıklı 7 olmak üzere farklı ırkta toplam 14 erkek sokak köpeği kanı analizler için kullanıldı.

Biyokimyasal parametrelerin ölçümü:

Antikoagulansız jelli vakumlu biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 3000 rpm'de, +4°C'de 5 dk santrifüj edildikten sonra serumları çıkarıldı. Elde edilen serum örneklerinde kardiak troponin I (cTnI), kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz- miyokardiyal band (CK-MB), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), total protein, total bilirubin, trigliserit, kolesterol, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), kan üre azotu (BUN), üre, kreatinin ölçümleri modüler oto analizör cihazında (Cobas Integra 800, Roche) yapıldı.

Kan gazı parametrelerin ölçümü:

Kanlar, kuru heparinli enjektörlere imalatçı firmanın önerileri doğrultusunda 1 ml işaretine kadar alındı. Heparin ve kanın düzgün bir şekilde karışmasını sağlamak için enjektörler avuç içinde yuvarlandı. Soğuk zincirde korunarak getirilen venöz kan örneklerinde: pH, kısmi karbndioksit basıncı (pCO_2), kısmi oksijen basıncı (pO_2), bikarbonat ($HC0_3^-$) ve baz açığı (BE) ölçümleri kan gazı analizör cihazında (ABL90 FLEX) yapıldı.

Hematolojik parametrelerin ölçümü:

Heparinli tüplere alınan kan örneklerinde, lökosit (WBC), eritrosit (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), lenfosit, monosit, nötrofil, bazofil, eozinofil ölçümleri otomatik kan sayım cihazında (Melet Schloesing MS4 Vet. Wasson MC-1200. Sysmex K1000) yapıldı.

3.2.4. Total sialik asit (TSA) seviye tespiti

Prensip:

Serum TSA analizi Sydow ve ark. (1988)'nın geliştirdiği metoda göre yapıldı. Bu metot asit ile hidrolizde serbest hale geçen sialik asitin Erlich ayracı ile pembe renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan pembe rengin 525 nm deki absorbansı TSA miktarı ile orantılıdır.

Kullanılan ayraçlar:

%5'lik perklorik asit çözeltisi (V/V): 7,04 ml perklorik asit alınarak bir miktar distile su içeren balon joje'ye konulur ve hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Ehrlich ayracı: 5 gr P-dimetilaminobenzaldehid 50 ml yoğun HCI asit içerisinde çözülür ve üzerine 50 ml distile su ilave edilerek hacim 100 ml'ye tamamlanır. Her ölçümden önce taze hazırlanır.

N-asetil nöraminik asit (NANA) standart solüsyonunun hazırlanması: Fosfat tamponu (pH 7.4, 0.1 M) kullanılarak NANA (Sigma) standartından 40 mg/ml stok standart çözeltisi hazırlanır.

Deneyin yapılışı:

Tablo 1: Total sialik asit seviye ölçümü

	Örnek (ml)	Kör (ml)	Standart (ml)
Serum	0.2	-	-
Distile su	-	0.2	-
NANA			0.2
Perklorik asit	1.5	1.5	1.5

Tüpler 100°C ‘de 5 dk inkübe edildi ve hemen soğutuldu. 2500 rpm’ de 4 dk santrifüj edildi.

Süpernatant	1	1	1
Ehrlic ayracı	0.2	0.2	0.2

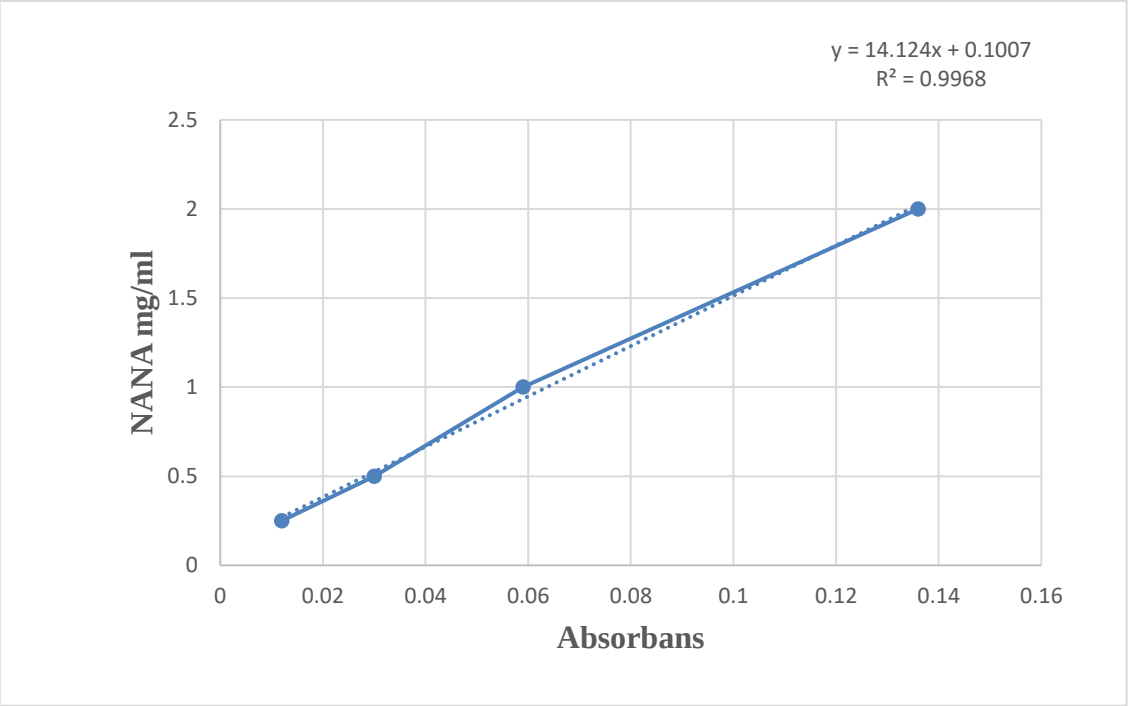
Tüpler 100°C ‘de 15 dk inkübe edildi ve hemen soğutuldu.

Distile su	1	1	-

Tüpler vortekslendi. 525 nm’de optik dansite köre karşı okundu.

TSA düzeyinin hesaplanması:

Stok standart çözeltiden 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarda dilüsyonlar hazırlandı. Elde edilen standart dilüsyonlar yukarıdaki yöntemle çalışıldı. Absorbansları okunarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil-6) ve bu standart eğriden örneklerin TSA seviyeleri hesaplandı, sonuçlar mg/ml olarak belirtildi.



Şekil 6: Total sialik asit standart grafiği

3.2.5. Lipide bağlı sialik asit (LSA) seviye tespiti

Prensip:

LSA analizi Katapodis ve ark. (1982)'nın geliştirdiği metoda göre yapıldı. Bu metot lipid fazın ekstraksiyonundan sonra asidik ortamda serbest kalan sialik asitlerin rezorsinol ayıracı ile mavi renkli kompleksler oluşturması esasına dayanır. Oluşan mavi rengin 580 nm deki absorbansı LSA miktarı ile orantılıdır.

Kullanılan ayraçlar:

Rezorsinol ayıracı: 0.2 gr rezorsinol tartılır ve 10 ml distile suda çözülür. Üzerine 80 ml HCl (% 36.5) ve 0.25 ml 0.1 M $CuSO_4$ ilave edilir. Hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Fosfotungistik asit: 10 gr fosfotungistik asit tartılır ve 10 ml distile suda çözülür.

Kloroform/metanol (2:1 v/v): 200 ml kloroform, 100 ml metanol alınarak son hacim 300 ml'ye tamamlanır.

Butil asetat/butil alkol (85:15 v/v): 85 ml butil asetat, 15 ml butil alkol alınarak son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

N-asetil nöraminik asit (NANA) standart solüsyonunun hazırlanması: Fosfat tamponu (pH 7.4, 0.1 M) kullanılarak NANA (Sigma) standartından 40 mg/ml stok standart çözeltisi hazırlanır.

Deneyin yapılışı:

Tablo 2: Lipide bağlı sialik asit seviye ölçümü

	Örnek	Kör	Standart
Distile su	150 µl	150 µl	150 µl
Serum	44.7 µl	-	-
NANA	-	-	44.7 µl

Tüpler 5 sn vortekslendikten sonra buz dolu beher içine yerleştirildi.

Soğuk kloroform/metanol (4-5°C)	3ml	3ml	3ml

Tüplerin ağzı kapatılıp 30 sn boyunca ters çevrilerek karıştırıldı. 2500 rpm'de oda sıcaklığında 5 dk santrifüj edildi.

Üst tabaka	1 ml	1 ml	1 ml
Fosfotungustik asit	50 µl	50 µl	50 µl

Tüpler karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. 2500 rpm'de oda sıcaklığında 5 dk santrifüj edildi. Süpernatan vakum yoluyla uzaklaştırıldı.

Distile su	1ml	1ml	1 ml

Tüpler çökelti sert bir şekilde görülebilen partiküller olmadan süspansiyonda kalana kadar yaklaşık 1 dk vortekslendi.

Rezorsinol	1 ml	1 ml	1 ml

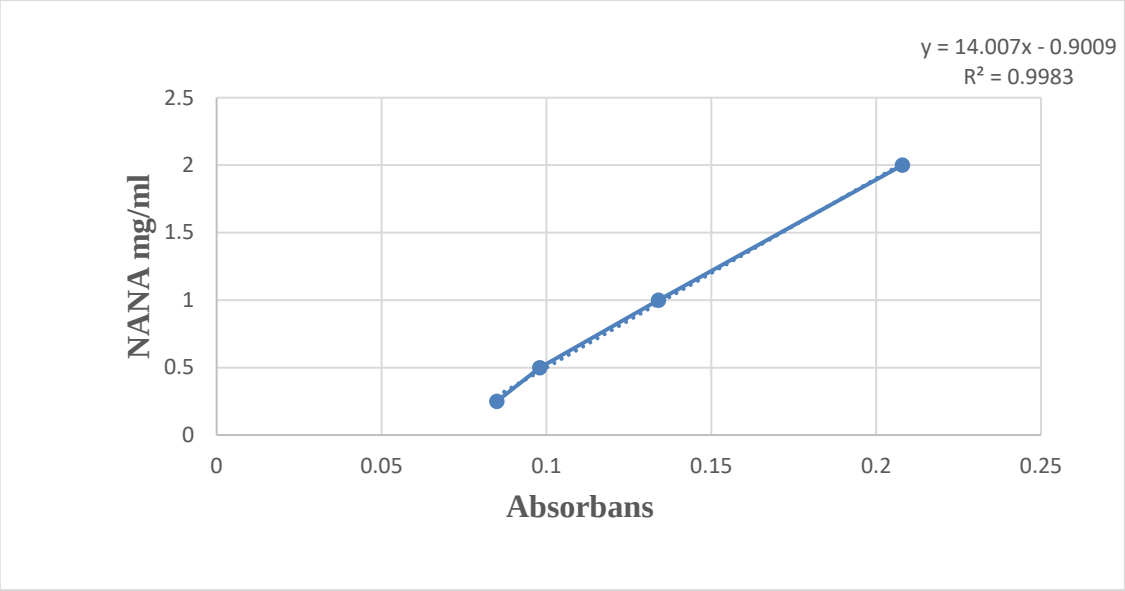
Tüpler karıştırıldı ve 100°C de 15dk inkübe edildi. Ardından 10 dk buz banyosunda bekletidi.

Butil asetat/butil alkol	2 ml	2 ml	2ml

Tüpler karıştırıldıktan sonra 2500 rpm' de 5 dk santrifüj edildi. 580 nm'de optik dansite köre karşı okundu.

LSA düzeyinin hesaplanması:

Stok standart çözeltiden, 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarda dilüsyonlar hazırlandı. Elde edilen standart dilüsyonlar yukarıdaki yöntemle çalışıldı. Absorbansları okunarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil-7) ve bu standart eğriden örneklerin LSA seviyeleri hesaplandı, sonuçlar mg/dl olarak belirtildi.



Şekil 7: Lipide bağlı sialik asit standart grafiği

3.2.6. İstatistiksel analiz

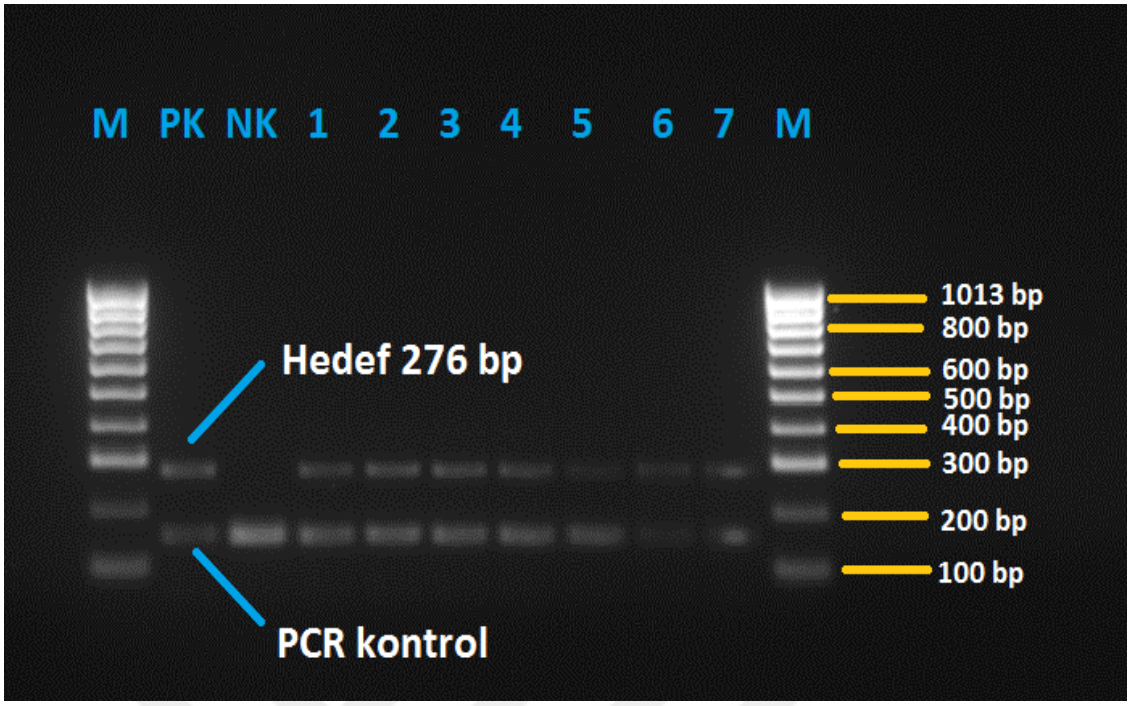
Verilerin istatiksel değerlendirilmesinde SPSS (22) paket programı kullanıldı. İlk önce grupların normal dağılım gösterip göstermediğine bakmak için Normality testi uygulandı. Shapiro-Wilk testinin (Sig.) değeri yani Significance/Anlamlılık değeri 0.05' in üzerinde olduğu için grupların normal dağılım gösterdiği belirlendi. Bu sebeple gruplar arasındaki istatistiksel farklar Bağımsız Örneklem T-Testi (Independent Sample T-Test) kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar X±SE olarak verildi. Anlamlılık düzeyi <0.05 olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Sokak köpeklerinden toplanan 96 adet kan örneğinin Modifiye Knott yöntemi ile analizinde 5'nin (% 5.2) dirofilariosis yönünden pozitif olduğu belirlendi. Mikrofilerin mikroskobik görüntüsüne ait fotoğraflar Şekil-8'de verildi. Modifiye Knott testi sonucunda dirofilaria soyuna ait mikroskobik yönden pozitif çıkanlar dâhil tüm örneklere ve spesifik primerlere PCR metodu uygulandı. Toplam 7 (% 7,2) köpekte *D. immitis* etkeni belirlendi. *D. immitis* izolatlarının 276 bp gen bölgesini amplifiye eden primerler ile PCR sonucu elde edilen amplikonların jel elektroforez görüntüsü Şekil-9'da verildi. Hasta hayvanların yapılan klinik muayenesinde 3'ünde öksürük, 2'sinde solunum güçlüğü olduğu ve diğer ikisinin asemptomatik olduğu gözlendi.



Şekil 8: Mikrofilerin mikroskobik görüntüsü



Şekil 9. *Dirofilaria immitis* izolatlarının PCR sonrası jel elektroforez görünümü. M: marker; 1- 7: pozitif izolatlar; PK: pozitif kontrol; NK:negatif kontrol.

Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerin serum biyokimyasal parametre düzeyleri Tablo-3' de verildi. Sağlıklı gruba göre, dirofilariosisli köpeklerin cTnI, CK-MB, trigliserit, VLDL, LDL, BUN, üre ve kreatinin seviyeleri ile AST, ALT, ALP ve LDH enzim aktivitelerinin önemli derecede arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Bununla birlikte kolesterol ve HDL seviyelerinin önemli oranda azaldığı saptandı ($p<0.05$). Total protein ve total bilirubin seviyeleri ile CK enzim aktivitesindeki artışın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$)

Tablo 3: Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun biyokimyasal parametre düzeyleri.

Parametreler	**Sağlıklı grup** (n=7) (X ± SE)	**Dirofilariosisli grup** (n=7) (X ± SE)	**Referans değerler**[a, b, c]
cTnI (µg/l)	0.09±0.04	1.49±0.49*	0.03-0.11[b]
CK-MB (µg/l)	0.60±0.14*	2.07±0.53*	0-0.64[b]
CK (u/l)	15.42±62.30	22.84±96.65	5-25[a]
AST (u/l)	43.59±9.76	80.39±16.70*	23-66[a]
ALT (u/l)	48.39±16.52	94.92±26.31*	21-102[a]
ALP (u/l)	60.86±21.84	118.18±34.96*	20-156[a]
LDH (u/l)	136.71±66.18	279.29±146.70*	45-233[a]
Total protein (g/l)	63.43±6.40	65.43±4.35	53-73[a]
Total bilirubin (µmol/l)	0.11±0.03	0.12±0.04	0-6.84[a]
Trigliserit (mg/dl)	61.85±9.73	97±12.16*	50-100[a]
Kolestrol (mg/dl)	202.85±28.35	140.14±17.78*	125-250 [a]
VLDL (mg/dl)	11.97±2.2	20.31±3.08*	-
LDL (mg/dl)	61.91±5.05	133.57±28.54*	5–86[c]
HDL (mg /dl)	79.77±7.18	56.54±4.03*	49–165[c]
BUN (mg/dl)	26.14±12.60	60.00±31.12*	12-25[a]
Üre (g/dl)	31.10±11.97	51.89±5.19*	42.8-59.9[a]
Kreatinin (mg/dl)	0.86±0.18	1.47±0.35*	0.5-1.5[a]

*p<0.05, aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemi gösterir. a (Karagül ve ark., 2000), b (Ok ve ark., 2010), c **(**Loria ve ark., 2020). Kardiak troponin I (cTnI), kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz- miyokardiyal band (CK-MB), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), kan üre azotu (BUN), çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL).

Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerin hematolojik parametre düzeyleri Tablo-4' de verildi. Sağlıklı gruba göre, dirofilariosisli köpeklerde RBC seviyesinin önemli derecede azaldığı tespit edildi. Bununla birlikte WBC seviyesinin önemli oranda arttığı saptandı ($p<0.05$). Hb ve Hct seviyelerindeki azalmanın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Diferensiyel kan tablosuna bakıldığında eozinofil sayısının önemli derecede arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Nötrofil ve bazofil sayılarındaki artış ile lenfosit ve monosit sayılarındaki azalmanın anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Tablo 4. Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun hematolojik parametre düzeyleri.

Parametreler	**Sağlıklı grup** (n=7) (X ± SE)	**Dirofilariosisli grup** (n=7) (X ± SE)	**Referans değerler[d]**
WBC (10^3/mm^3)	10.98±3.45	18.77±3.24*	6.0-17.0
RBC (10^6/mm^3)	6.93±1.11	5.62±0.96*	6.0-9.0
Hb (g/dl)	18.11±2.74	17.72±2.45	10.5-20
Hct (%)	49.41±5.47	43.71±5.96	37-54
Lenfosit (%)	24.95±12.99	19.26±8.97	12-30
Monosit (%)	10.33±6.92	6.44±4.53	3-10
Nötrofil (%)	56.65±24.31	66.04±13.76	60-75
Bazofil (%)	0.13±1.34	0.23±1.12	0-1
Eozinofil (%)	2.75±1.34	7.34±2.42*	2-10

*p<0.05, aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemi gösterir. d (Yılmaz, 2000). Lökositler (WBC), eritrosit (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct).

Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerin venöz kan gazları parametre düzeyleri Tablo-5' de verildi. Sağlıklı gruba göre, dirofilariosisli köpeklerin pCO_2, HCO_3^- ve BE seviyelerinin önemli derecede azaldığı tespit edildi ($p<0.05$). pH ve pO_2 seviyelerindeki azalmanın anlamlı olmadığı saptandı ($p>0.05$).

Tablo 5: Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun venöz kan gazları parametre düzeyleri.

Parametreler	**Sağlıklı grup** (n=7) (X ± SE)	**Dirofilariosisli grup** (n=7) (X ± SE)	**Referans değerler[e]**
pH (-log H^+)	7.31±0.05	7.29±0.01	7.35-7.42
pCO_2 (mm/Hg)	41.84±4.00	39.49±3.65*	29.0-42.0
pO_2 (mm/Hg)	48.87±8.32	44.83±3.99	49.9-54.2
HCO_3^- (mm/L)	22.55±2.12	19.16±1.90*	22.2-22.4
BE (mm/L)	0.73±1.70	-2.61±2.80*	-

*p<0.05, aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemi gösterir. e (Anonim, 2020). Karbndioksit basıncı (pCO_2), kısmi oksijen basıncı (pO_2), bikarbonat ($HC0_3^-$), baz açığı (BE).

Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerin serum total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri Tablo-6'da verildi. Sağlıklı gruba göre, dirofilariosisli köpeklerde serum total

sialik asit (TSA) ve lipide bağlı sialik asit (LSA) seviyelerinin önemli derecede arttığı tespit edildi ($p<0.05$).

Tablo 6: Sağlıklı ve dirofilariosisli grubun serum total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri.

Parametreler	**Sağlıklı grup** (n=7) (X ± SE)	**Dirofilariosisli grup** (n=7) (X ± SE)
TSA (mg/dl)	8.25±0.92	11.23±2.65*
LSA (mg/dl)	2.00±0.90	4.02±1.13*

*$p<0.05$, aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemi gösterir. Total sialik asit (TSA), lipide bağlı sialik asit (LSA)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dirofilariosis diğer adı ile kalp kurdu hastalığı, sivrisineklerle bulaşan özellikle kardiopulmoner hastalıklar meydana getiren, dirofilaria türlerinin neden olduğu zoonoz paraziter bir hastalıktır (Montoya ve ark., 2006; Sevimli ve ark., 2007). Hastalık genellikle köpek ve köpekgillerde görülmesine rağmen az da olsa kedi ve insanlarda da rastlanmaktadır. Köpeklerde dirofilariosise neden olan ve insanlarda da hastalık meydana getiren türler *D. immitis* ve *D. repens*'dir. Türkiye'deki köpeklerde her iki parazitin varlığı tespit edilmiştir (Eroğlu, 2017).

Köpeklerde *D. immitis* enfeksiyonun oluşmasında sivrisineklerin varlığı ve sıcaklık gibi çevre koşulları kadar, yaş ve cinsiyette önemlidir. Yaşlı (4-5 yaş) köpeklerde gençlerden, erkek köpeklerde dişilerden ve sokak köpeklerinde evde barınanlardan enfeksiyon riskinin daha yüksek olduğu bildirimine (Fırat ve ark., 2005; Taylor ve ark., 2007) uygun olarak bu çalışmada 4-5 yaşında erkek sokak köpeği kullanıldı.

D. immitis ile enfekte köpeklerin bazılarında klinik belirtiler görülmeyebilir. Klinik belirtilerin şiddeti, köpekte bulunan ergin parazit sayısına bağlıdır. *D. immitis* enfeksiyonu kalpte bulunan parazite bağlı olarak çoğunlukla subkliniktir. Klinik semptomlar kalpteki parazit sayısı 25'in üzerine çıktığında daha belirgin hale gelir. Kalpte bulunan faktörlerden dolayı oluşan kalp yetmezliği, hasta hayvanlarda harekete intolerans ile beraber göğüs ve karın boşluğunda sıvı toplanması, solunum sıkıntısı, kronik öksürük, anormal akciğer ve kalp sesleri vb. semptomlara neden olmaktadır. Bazı hastalarda posterior vena cava'nın tıkanmasına bağlı olarak anemi, hemoglobinemi ve hemoglobinuri görülmektedir. Dirofilariosisli köpeklerin çoğunda, parazitin şiddeti veya uzun süreli enfeksiyonunu takiben pulmoner damarlarda patolojik değişimler sonucunda pulmoner hipertansiyon meydana gelmektedir. Pulmoner hipertansiyon hastalığın semptomlarının gelişmesinde önemli role sahiptir. Assites ve kalpte endokardiyal üfürümler özellikle pulmoner hipertansiyonla birlikte görülmektedir (Doğanay ve ark., 2018).

Sunulan bu çalışmada kullanılan enfekte köpeklerin klinik muayenesinde, 3'ünde öksürük, 2'sinde solunum güçlüğü ve 2'sinde hastalığın asemptomatik seyretmesi hastalık için belirtilen klinik bulgular ile uyum göstermektedir (Börkü ve ark., 1996; Taylor ve ark., 2007).

Tıbbi ve veteriner hekimliği alanında hastalık sürecini taramak ve izlemek için birçok biyobelirteç türü geliştirilmiş ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyokimyasal parametreler yerel ve sistemik hastalık sürecini ve/veya belirli bir tedaviye yanıtı değerlendirmek için kullanılır. Hematolojik parametreler anemi, enfeksiyon ve inflamasyon gibi kan hücrelerini etkileyen bazı hastalık durumlarını taramak, teşhis etmek veya takip etmek için kullanılır. Hematolojik ve biyokimyasal bulgular; coğrafi dağılım, parazitin virülansı ve konakçı durumuna (immun cevap, yaş, ırk, coğrafi bölge…vs) göre değişiklik gösterebilir (Taşçı ve Kılıç, 2012).

Dirofilariosis köpeklerin sağ ventrikülünde aşırı yük artışına, konjestif kalp rahatsızlıklarına ve özellikle karaciğer, böbrek gibi organlarda işlev değişiklikleri ile çeşitli oranlarda pulmoner embolizm ve pulmoner hipertansiyona neden olur. Akciğer, kalp, böbrek ve karaciğerde oluşan lezyonlarla birlikte mikrofiler hastalıklarda; kan gazları değişiklikleri, karaciğer enzim aktivitelerinin artması, hepatik fonksiyonun azalması, proteinüri ve üremi gibi bulgular görülür (Atkins, 2005).

Kardiyopulmoner biyobelirteçler olarak kullanılan cTnI, CK ve CK-MB hastalıkların erken teşhisine izin verir, şüpheli vakaları ve süreçleri onaylar ve belirli bir tedavi seçimine katkıda bulunur. cTnI normalde kanda bulunmayan bir proteindir, kanda seviyesinin artması hastanın miyokard infartüsü geçirip geçirmediğini yada ekstrakardiyak sistem hastalıklarının miyokard bütünlüğü üzerinde zararlı bir etkisinin olup olmadığını değerlendirmek için kullanılır (Morow ve ark., 2000; Karagül ve ark., 2000). CK aktivitesi, kalp krizi, kalp kası iltahaplanması, kalp operasyonları, kalp yetmezliği, iskelet kası travması ve kas distrofisi gibi durumlarda artar. CK'nın izoenzimi olan CK-MB, miyokard total CK aktivitesinin %20'sini oluşturur. CK ve CK-MB miyokardial hücre hasarının değerlendirilmesinde kullanılan önemli parametrelerdir (Bakırel ve Güneş, 2009).

Dirofilariosisli köpeklerde kalp hem fonksiyonel hem de morfolojik olarak etkilenir. *D. immitis*'in erişkinleri köpeklerin kalbinde sağ ventriküle ve pulmoner arterlere yerleşerek, endotel hasarı, miyokard infartüsü ve arterioskleroza sebep olur (Pasca ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda dirofilariosisli köpeklerde miyokard hasarını düşündürecek şekilde cTnI düzeyinin arttığı tespit edilmiştir (Gazyagci ve ark., 2011; Carretón ve ark., 2011; 2012; 2013; 2014; Yoon ve ark., 2017). İmmünohistokimyasal bir çalışma, cTnI'nın patolojik seviyesinin enfekte köpeklerden alınan miyokard dokusunda fokal nekroz ve inflamatuar infiltratlarla ilişkili olduğunu ve cTnl'nın artan konsantrasyonlarının bu köpeklerde miyokard hasarına işaret ettiğini ortaya koymuştur (Carretón ve ark., 2012). Ayrıca serum cTnI seviyesinin yükselmesinin sadece ileri evre dirofilariosisli köpeklerde görüldüğü belirtilmiştir (Carretón ve ark., 2014; Yoon ve ak., 2017). Aynı şekilde yapılan farklı çalışmalarda dirofilariosisli köpeklerde sağlıklı köpeklere göre kardiyopulmoner lezyonlar sonucu CK (Voyvoda ve ark., 1996; Balıkçı, 2005; Meral ve ark., 2007; Sevimli ve ark., 2007; Kına, 2009) ile CK-MB (Kına, 2009; Carretón ve ark., 2013) enzim aktivitelerinin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında, dirofilariosisli köpeklerde serum cTnI seviyesi ile CK-MB enzim aktivitesinin önemli derecede arttığı ve bu artışın referans değerinden yüksek olduğu tespit edildi. CK enzim aktivitesinde anlamlı olmayan bir artışın olduğu saptandı. cTnI seviyesi ve CK-MB enzim aktivitesindeki artış, *D. immitis*'in ergin formlarının köpeklerin sağ ventrikuluna yerleşerek konjestif kalp bozukluğu meydana getirmesinden kaynaklanmış olabilir. Araştırmamızda CK enzim aktivitesi dışında, serum cTnI seviyesi ile CK-MB enzim aktivitesi için elde edilen sonuçlar yukarıdaki araştırıcıların bildirimleri ile uyumludur. Sribhen ve ark. (1999), bu çalışmadaki sonucu destekleyecek şekilde CK enzim aktivitesi açısından dirofilariosisli ve sağlıklı köpekler arasında fark olmadığını bulmuşlardır.

Karaciğerde meydana gelen bozuklukların belirlenmesinde ALT, AST, ALP ve LDH gibi enzimler ile birlikte lipoproteinler, kolesterol, trigliserit, albümin, globülin, total protein ve total bilirubin gibi parametreler kullanılır (Karagül ve ark., 2000;). AST tüm hücrelerde sitozolde ve mitokondride lokalize olmuştur. Karaciğer ve kasta yüksek aktivitede bulunur. Serum AST akivite yükselişi karaciğer ve kas hücre

permeabilitesindeki bozukluklar sonucu meydana gelir. ALT sitozolik bir enzim olup karaciğere spesifiktir. Hücre permeabilitesindeki değişiklikler ve hepatositte enzim indüksiyonu serum ALT aktivitesinde artışa neden olur. ALP bir hidrolaz enzimidir, kemik, karaciğer, bağırsak ve plasentada sentezlenir. ALP aktivitesi kemik, karaciğer ve safra yolları hastalıklarında anlamlı farklar gösterir. LDH kas ve kalp başta olmak üzere her hücrede bulunur. Bu nedenle hücre veya dokular zarar gördüğünde LDH buralardan kana geçer. LDH aktivite ölçümü vücuttaki doku hasarının sebebini, yerini tespitte ve hasarın ilerlemesini takipte faydalı bilgiler verir (Karagül ve ark., 2000; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

D. immitis'in ergin veya mikrofiler formları karaciğerde lokalize olur ve ona hem fonksiyonel hem de morfolojik olarak zarar verir. Dirofilariosisli köpeklerde karaciğer enzim aktivitelerinin artması, hastalıkta sağ kalp yetmezliğine bağlı gelişen asites ve pasif konjesyona bağlı gelişir (Tabrizi, 2012). Serum enzim aktivitelerindeki herhangi bir yükselme onların yerleştiği dokularda oluşan tahribatın bir göstergesidir (Kına, 2009). Dirofilariosisli köpeklerde Goggin ve ark. (1997), ALP ve ALT, Balıkçı (2005) ve Niwetpathomwat ve ark. (2006; 2007), AST, ALT ve ALP, Kına (2009) AST, ALT ve LDH, Borthakur ve ark. (2011) ve Atyha ve Alani (2017) ALT ve AST, Tabrizi (2012) ALP ve Aslan ve ark. (2010), AST, ALP, ALT ve GGT enzim aktivitelerinin önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada normal değerler ile karşılaştırıldığında, dirofilariosisli birinci köpekte ALP ve LDH, ikinci köpekte AST ve ALP, üçüncü köpekte AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin arttığı, dördüncü köpekte bu enzim aktivitelerinde fark olmadığı rapor edilmiştir. Elde edilen bu farklı sonuçların *D. immitis* enfeksiyonunun şiddetine, ikincil faktörler ve bireysel farklılıklardan kaynaklandığı belirtilmiştir (Sevimli ve ark., 2007). Ranjbar-Bahadori ve ark. (2010), enfekte köpeklerde enfekte olmayanlara göre AST enzim aktivitesinde anlamlı, ALP enzim aktivitesinde ise anlamlı olmayan bir artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında, dirofilariosisli köpeklerin serum AST, ALT, ALP ve LDH enzim aktivitelerinin önemli derecede arttığı tespit edildi. Ayrıca AST ve LDH enzim aktivitelerindeki artışın referans değerinden yüksek olduğu saptandı. Karaciğer için spesifik olan bu enzim aktivitelerinin yüksek olması,

kan örneklerinde görülen mikrofilerlerin veya ergin parazitlerin karaciğerde lokalize olarak karaciğere zarar vermesinden kaynaklanmış olabilir. Ayrıca hasta köpeklerde AST ve LDH enzim aktivite artışı *D. immitis* nedeni ile meydana gelen kardiyovasküler hasarı destekleyebilir. Araştırmadan sağlanan sonuçlar, Ranjbar-Bahadori ve ark. (2010)'nın ALP sonucu dışında yukarıdaki araştırıcıların bildirimleri ile uyumludur.

Plazma proteinlerinin hemen hemen tamamı karaciğerde hepatositlerde sentezlenir. Bu proteinler çok önemli biyokimyasal ve fizyolojik görevleri yerine getirirler. Serum total protein değeri, fraksiyonel dağılımı ve A/G oranındaki değişiklikler genellikle bir protein anormalliğinin ilk belirtisidir. Serum toplam protein derişimindeki yükseliş, plazma su miktarının azalması, bazı kronik rahatsızlıklarda γ globülin artışı ve böbrek yetmezliği gibi durumlarda, azalış ise protein sentezinde aksaklık, kalp yetersizliği, protein kaybı ve plazma su miktarının artması gibi nedenlerden kaynaklanır (Gözükara, 1989; Karagül ve ark., 2000; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Sunulan çalışmada daha önce yapılan araştırmaların (Balıkçı, 2005; Aslan ve ark., 2010; Ranjbar-Bahadori ve ark., 2010; Borthakur ve ark., 2011) sonuçlarını destekleyecek şekilde, sağlıklı gruba göre, dirofilariosisli köpeklerde total protein seviyesinde anlamlı olmayan bir artış olduğu tespit edildi. Elde edilen bu sonuçtan farklı olarak Sevimli ve ark., (2007), yaptıkları çalışmada enfekte dört köpeğin ikisinde total protein seviyesinin normal değerlere göre yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Bilirubin, hemoglobin başta olmak üzere diğer hem ihtiva eden sitokrom ve miyoglobin gibi proteinlerin RES'de parçalanması sonucu meydana gelir. Hemolitik hastalıklar, karaciğer hasarı yapan rahatsızlıklar ve safra akışının aksaması gibi durumlar serum total bilirubin seviyesinde artışa neden olur (Mert, 1996; Karagül ve ark., 2000).

Bu çalışmada sağlıklı gruba göre, dirofilariosisli köpeklerde total bilirubin seviyesinde anlamlı olmayan bir artış olduğu tespit edildi (Sevimli ve ark., 2007; Borthakur ve ark., 2011). Elde edilen bu sonuçtan farklı olarak Tabrizi (2012) ve Goggin ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada total bilirubin seviyesinin önemli derecede arttığını bulmuşlardır.

Plazma lipitleri, enerji deposu olarak görev alırlar ve hücrenin önemli yapısal bileşenidirler. Karaciğer steroid bir alkol olan kolesterol ve yağ asitlerinin gliserol esteri olan trigliseritin ve lipoproteinlerin sentezlendiği başlıca organdır. Kolestrol, kolesterol esterleri, trigliseritler ve fosfolipidler başlıca plazma lipitleridir. Dolaşım kanında bulunan kolesterolün, LDL ve HDL olarak hangi seviyede bulunacağına bağlı olarak aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın oluşumu belirlenir. Plazmada VLDL ve LDL değerinin yüksek, HDL değerinin düşük olması kalp damar hastalıkları için predispose hale getirir (Karagül ve ark., 2000; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

D.immitis'in erişkin formları kalpte sağ ventrikul ve pulmoner arterlere yerleşerek, endotel hasarı, miyokardial infartüse ve damar sertliğine (arterioskleroz) neden olur (Pasca ve ark., 2012). Deneysel miyokard infarktüsü oluşturulan köpeklerde serum lipid seviyelerinde artış olduğu bildirilmiştir (Salmanoğlu ve Bozdoğan, 1991). Jacobs ve ark. (1992), dirofilariosisli köpeklerde trigliserid ve kolesterol düzeyinde yükselme, HDL düzeyinde ise azalma olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada, trigliserit, VLDL ve LDL seviyelerinin arttığı, kolesterol ve HDL seviyesinin azaldığı rapor edilmiştir (Kına, 2009). Aslan ve ark. (2010) ve Ranjbar-Bahadori ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada enfekte köpekler ile sağlıklı köpekler arasında kolesterol seviyesi açısından fark olmadığını bulmuşlardır.

Kına (2009)'nın yaptığı çalışmanın sonuçlarını destekleyecek şekilde, bu çalışmada sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında, dirofilairosisli grupta istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde, serum, trigliserit, VLDL ve LDL seviyelerinin arttığı, HDL ve kolesterol seviyesinin ise azaldığı tespit edildi. Ayrıca LDL seviyesindeki artışın referans değerinden yüksek olduğu tespit edildi. Araştırmada kolesterol seviyesinin düşük olması, kolesterolde fark olmadığını (Ranjbar-Bahadori ve ark., 2010; Aslan ve ark., 2010) ve yüksek olduğunu (Jacobs ve ark., 1992) bulan çalışmaları desteklememektedir. Trigliserit ve VLDL seviyelerinin yüksek olmasının nedeni, glikolizise bağlı olarak trigliserit ve VLDL kolesterolün karaciğerde yapımını uyaran yağ doku lipolizisine bağlı olabilir. Kolesterol seviyesinin düşük olması parazitin karaciğerde neden olduğu hasar nedeniyle, hepatositlerde kolesterol sentezinin aksamasından kaynaklanmış olabilir. LDL seviyesinin yüksek olması ise *D.immitis* nedeni ile LDL reseptörlerinin baskılanması sonucu, LDL'nin plazmadan hücreye

girişinin azalmasından meydana gelmiş olabilir. HDL seviyesinin düşük bulunması, hastalık sırasında gelişen kolesterol sentezinin azalmasına bağlı olabilir. Ayrıca VLDL ve LDL seviyesinin yüksek, HDL seviyesinin düşük olması diroflariosise bağlı olarak gelişen kardiyopulmoner rahatsızlıkların gelişmesinde katkı sağlamış olabilir.

Kandaki üre, kreatinin, BUN ve ürik asit seviyeleri genellikle böbrek fonksiyonunun göstergesi olarak ölçülür. Üre azotu oluştuktan sonra, bir kısmı kandan filtre edildiği böbreklere taşınır. Kanama ve ishal durumları plazma üre seviyesinin artmasına neden olabilir. Konjestif kalp yetmezliğinde ve intravasküler hacim azaldığında böbrek kan akışı da azalır. Üremi akut veya kronik böbrek yetmezliği ile ilişkili olabilir. Kreatinin normal kas metabolizması sonucu oluşur ve böbrekler yolu ile atılır. BUN ve serum kreatinin tayinleri, böbrek tarafından uzaklaştırılan azotlu atıkların miktarı ile ilişkilidir. Serum kreatinin düzeyindeki artış böbrek yetmezliğini, serum BUN düzeyindeki artış ise böbrek doku hasarını gösterir (Karagül ve ark., 2000; Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

D. immitis ile enfekte olmuş köpeklerde glomerulonefropati , glomerüloskleroz, kronik interstisyel nefrit ve amyloidosis gibi böbrek hasarları tanımlanmıştır (Niwetpathomwat ve ark., 2007). Glomeruler bazal membranda mikrofiler antijenlerin toplanarak immun kompleksler oluşturmasının glomerulopatiye neden olduğu belirtilmiştir (Balıkçı, 2005).

Bir çok araştırmacının bulgularını destekleyecek şekilde bu çalışmada, sağlıklı köpeklere göre, diroflariosisli köpeklerde serum üre (Şahal ve ark., 1997; Balıkçı, 2005; Atyha ve Alani, 2017), kreatinin (Börkü ve ark., 1996; Niwetpathomwat ve ark., 2006; 2007) ve BUN (Niwetpathomwat ve ark., 2006; 2007; Sevimli ve ark., 2007; Tabrizi, 2012) seviyelerinin önemli derecede arttığı tespit edildi. Aynı zamanda BUN seviyesindeki artışın referans değerinden yüksek olduğu saptandı. İncelenen bu parametrelerdeki artışlar, glomeruler lezyonlara bağlı olarak filtrasyonun azalmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca BUN seviyesindeki artış böbrek hasarına işaret eder. Bu sonuçlardan farklı olarak, yapılan çalışmalarda üre, kreatinin ve BUN seviyelerinde fark olmadığı bulunmuştur (Ranjbar-Bahadori ve ark., 2010; Atyha ve Alani, 2017).

Köpeklerde kan tablosu ırka, yaşa, cinsiyete, iklim koşullarına ve hastalıklara bağlı olarak değişim gösterir. Sağlıklı hayvanlardaki normal hematolojik değerler ile hasta hayvanlardan elde edilen değerlerin karşılaştırılması hastalıkların tanısında faydalı bilgiler verir (Yılmaz, 2000; Guyton ve Hall, 2001).

Paraziter etkenler, kan dolaşımında eritrosit sayısında veya kan hacmine göre eritrosit sayısında yada hemoglobin konsantrasyonununda düşmeye neden olarak konakçıda anemiye yol açar (Atyha ve Alani, 2017). Dirofilariosisli köpeklerde yapılan araştırmalarda RBC, Hb ve Hct düzeylerinde meydana gelen değişiklikler sonucunda farklı derecelerde anemi meydana geldiği bildirilmiştir (Niwetpathomwat ve ark., 2007; Sevimli ve ark., 2007). Aneminin mekanizması tam olarak belli olmamasına rağmen, enfeksiyon döneminde anemimin damarlarda çok sayıda erişkin etkenin bulunması ile kan akımınının engellenmesinin, dolaşımındaki eritrositlerin kırılganlığını artırarak hemoliz olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Atyha ve Alani, 2017).

Sunulan çalışmada daha önce yapılan çalışmaların (Balıkçı, 2005; Sarıtaş ve ark., 2005; Ranjbar-Bahadori ve ark., 2010; Borthakur ve ark., 2011; Atyha ve Alani, 2017) sonuçlarını destekleyecek şekilde, sağlıklı gruba göre dirofilariosisli köpeklerde RBC seviyesinin önemli derecede azaldığı tespit edildi. RBC seviyesinin referans değerin altına düşmesi hayvanlarda hafif aneminin şekillendiğine işaret eder. Bununla birlikte Hct ve Hb (Balıkçı, 2005) seviyelerindeki azalmanın anlamlı olmadığı saptandı (Ranjbar-Bahadori ve ark., 2010; Atyha ve Alani, 2017). Elde edilen bu sonuçtan farklı olarak yapılan çalışmalarda Hct (Balıkçı, 2005) ve Hb (Sarıtaş ve ark., 2005) seviyelerinde anlamlı azalma olduğu bulunmuştur (Borthakur ve ark., 2011).

Bu çalışmada sağlıklı köpeklere göre dirofilariosisli köpeklerde WBC seviyesinde anlamlı bir artış olduğu (Şahal ve ark., 1997; Balıkçı, 2005; Sarıtaş ve ark., 2005; Niwetpathomwat ve ark., 2007; Sevimli ve ark., 2007) ve bu artışın referans değerin üstünde olduğu tespit edildi. Hasta köpeklerde lökositoz gelişmesi diğer enfeksiyöz hastalıklara karşı direncin azalmasından ve pnömoni, nefritis gibi sekonder enfeksiyonlardan kaynaklanmış olabilir. Elde edilen bu sonuçtan farklı olarak, Ranjbar-Bahadori ve ark. (2010) ve Atyha ve Alani (2017) yaptıkları çalışmada WBC seviyesinde fark olmadığını bulmuşlardır.

Diferansiyel kan tablosuna bakıldığında, dirofilariosiste eozinofil ve bazofil yüzdelerinin artışı genel bulgu olarak gösterilmesine karşın, bunların diğer bağırsak parazitlerinin neden olduğu enfeksiyonlarda da görülebileceği ve dirofilariosis için spesifik olmadığı, ancak bu bulguların tanıda yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Şahal ve ark., 1997). Eozinofil sayısında fark olmadığını bulan araştırma (Ranjbar-Bahadori ve ark., 2010; Atyha ve Alani, 2017) sonuçlarından farklı olarak bu çalışmada, sağlıklı gruba göre, dirofilariosisli köpeklerde eozinofil sayısında önemli derecede artış olduğu tespit edildi (Balıkçı, 2005; Niwetpathomwat ve ark., 2007; Sevimli ve ark., 2007). Eosinofil sayısında artış saptanması, dirofilariosiste tanıyı destekleyici bulgu olabileceği fikrini doğrulamaktadır. Çalışmamızda nötrofil ve bazofil sayılarında artış, lenfosit ve monosit sayılarında ise azalma olduğu, bununla birlikte bu değişimlerin anlamlı olmadığı tespit edildi (Bahadori ve ark., 2010). Bu sonuçtan farklı olarak yapılan çalışmalarda nötrofil, bazofil, lenfosit ve monosit sayılarında anlamlı artma ve/veya azalma olduğu bulunmuştur (Şahal ve ark., 1997; Balıkçı, 2005; Niwetpathomwat ve ark., 2007; Sevimli ve ark., 2007).

Kan gazı analizi, özellikle respiratörik hastalıklar ve asit-baz dengesini etkileyen bir çok hastalığın teşhisi, tedavi ve prognozunun takip edilmesine hizmet eder (Tosun ve Tutluoğlu, 2000). Dirofilariosis ile ağır enfekte köpeklerde torasik radyografide sağ ventriküler genişleme, ana pulmoner arterlerde belirginleşme, kaudal akciğer loblarında ödem, hemoraji ve paranşimal bozuklukların oluşabileceği belirtilmiştir (Atkins, 2005; Meral ve ark., 2007). Akciğerde meydana gelen patolojik bozukluklar sonucu enfekte köpeklerde solunum güçlüğü ve öksürük görülür (Börkü ve ark., 1996). Solunum güçlüğü, solunum sisteminin gaz değişim fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Pulmoner, kardiyak, renal ve hepatik lezyonlarla birlikte mikrofileriyal hastalıklarda; kan gazlarında değişiklikler görülür (Sarıtaş ve ark., 2005).

Dirofilariosis ile enfekte köpeklerde arteriyal ve venöz pO_2 seviyesinin önemli derecede azalması, pCO_2 seviyesinin enfeksiyondan şiddetli etkilenmiş köpeklerde önemli derecede düşük olması nedeniyle kan gazları analizi pulmoner embolizmin tanısında hassas kriterdir (Kitagawa ve ark., 1993). Bu çalışmada sağlıklı köpeklere göre dirofilariosisli köpeklerde venöz kan değerlerinden pCO_2, HCO_3 ve BE seviyelerinde önemli derecede azalma olduğu tespit edildi. Ayrıca HCO_3 seviyesindeki

azalmanın referans değerinden düşük olduğu saptandı. pH ve pO_2 seviyelerinde anlamlı olmayan bir azalma olduğu saptandı. Bununla birlikte pO_2 seviyesideki azalmanın referans değerinden düşük olduğu saptandı. Köpeklerde kardiyopulmoner bozukluklarda hipoksemi gelişir, bu durumda vücut alveolar O_2'yi arttırmak için solunumu hızlandırarak ve CO_2'nin kan düzeyinin azalmasının neden olduğu alkalozu dengelemek için HCO_3 atarak tamponlama yapar (Balıkçı, 2005). Bu çalışmadaki enfekte köpeklerde pCO_2, HCO_3 ve BE seviyelerinin önemli derecede düşük olması organizmanın tamponlama yeteneğine işaret eder. Enfekte köpeklerde sağlıklı gruba göre kan pH'sında fark olmamasına rağmen, HCO_3 ve BE değerlerinin düşük bulunması, dirofilariosisde metabolik asidoz oluştuğunu işaret eder. Araştırmamızda elde edilen bulgular, pCO_2 seviyesindeki azalmanın anlamlı olmadığını bulmaları dışında Kitagawa ve ark. (1993), Şahal ve ark. (1997) ve Balıkçı (2005)'nın baktıkları diğer parametre sonuçları ile uyumludur.

Sarıtaş ve ark. (2005), enfekte köpeklerde arteriel kan gazı analizinde, pH seviyesinin alt sınırlarda, pCO_2 seviyesinin normal değerlerin üzerinde, pO_2, HCO_3^- ve BE seviyelerinin ise düşük olduğunu bulmuşlardır. Elde edilen bu sonucun köpeklerin egzersize karşı dayanıksız olmalarının yanında, enfeksiyon sırasında gelişen solunum ve dolaşımın çöküşünü desteklediğini belirtmişlerdir.

Sialik asit (SA), nöraminik asidin açillenmiş türevlerine verilen genel bir isimdir. N-asetil nöraminik asit (NANA) sialik asitlerin en yaygın olanıdır. SA'lar, glikokonjugatların (glikoproteinler, glikolipitler, proteoglikanlar) oligosakkarit ünitelerinin terminal kompanenti olarak bulunur. SA'lar negatif yük taşımaları sebebiyle hücrenin patojenler tarafından tanınmasında, hücreler arası etkileşimlerde, hormon reseptör ilişkilerinde ve membranın proteolizden korunmasında önemli etkilere sahiptir. SA'lar biyolojik membranların dış yüzeyinde yaygın bir şekilde bulunurlar (Sydow ve ark., 1988; Keleş ve ark., 2000).

Total sialik asit (TSA); lipide bağlı (lipide bağlı sialik asit, LSA) ve proteine bağlı (proteine bağlı sialik asit, PSA) olmak üzere başıca iki fraksiyondan oluşur. LSA'yı oluşturan başlıca lipoproteinler; VLDL, LDL, HDL ve lipoprotein (a) dır. PSA'nın önemli bir kısmını ise akut faz proteinleri (AFP) oluşturur. Çok küçük miktarları serbest halde bulunur (Schauer ve Kamerling, 1997; Taşkın, 2017). Serum

SA seviyelerinde meydana gelen değişiklikler hücre ya da dokularda meydana gelen hasarı ortaya koyar. Bu değişikliklerin takip edilmesi birçok hastalığın tanı, ayırıcı tanı ve prognozunda faydalı bilgiler verir (Sydow ve ark., 1988; Keleş ve ark., 2000). Serum SA düzeylerindeki artıştan, oligosakkarid yan zincirinin terminal pozisyonunda sialik asit kalıntıları bulnduran AFP'nin karaciğerde sentezinin artmasının, diğer yandan hasara uğramış hücre membranından sialik asit kalıntılarının spontan ya da sialidaz enzimi aracılığı ile salıverilmesinin sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Taşkın, 2017).

Veteriner hekimliği alanında birçok hastalık grubunda, serum sialik asit seviyesinde oluşacak değişikliğin hastalığın tanı ve takibinde klinik olarak kullanımı araştırılmıştır. Sığır leukozu (Sydow ve ark., 1988), kronik bovine hematüri (Singh ve ark., 1980), *Trypanosoma vivax* (Esievo ve ark., 1982), *kistik ekinokokkozis* (Yarım ve ark., 2010) enfeksiyonlarında serum TSA düzeyine ve sığır leptospirozis (Keleş ve ark., 2000), theileriozis (Karagenç ve ark., 2005), theileriozis- anaplazmozis (Ertekin ve ark., 2000), fascioliazis (Mert ve ark., 2006) enfeksiyonlarında hem TSA, hemde LSA düzeylerine bakılmış ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli farklar olduğu tespit edilmiştir. Serum SA düzeyindeki artışın enfeksiyona bağlı olarak hücre membran yapısında meydana gelen bozukluk ve dejenerasyona bağlı olduğu, akut faz cevabı yansıttığı rapor edilmiştir.

Yapılan literatür taramasında dirofilariosisli köpeklerde serum TSA ve LSA düzeyini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Altıntaş ve ark. (1989), yaptıkları çalışmada sağlıklı köpeklere göre, köpek gençlik hastalığında (distemper) sialik asit seviyesinin arttığını bulmuşlardır. Bu artışın muhtemel sebebinin virus ile etkileşime giren hücre ve doku membranından sialik asitin serbest kalmasından kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir.

Distemperlı köpeklerde hidrokortizon ve deksametazon enjeksiyonunun serum SA seviyesi üzerine etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada, SA seviyesinin önemli derecede arttığı ve hidrokortizondan otuz kat daha fazla glikokortikoid aktiviteye sahip bir kortizon olan deksametazonun daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Engen, 1971).

İyi ve kötü huylu tümör bulunan köpekler ile tümör dışında farklı hastalıklara (deri, üriner sistem ve gastrointestinal hastalıklar, pyometra, diğer enflamatuar

hastalıklar) sahip köpeklerde yapılan çalışmada, sağlıklı köpeklere göre serum TSA seviyesinin yüksek olduğu bulunmuştur. Tümörde TSA seviyesindeki artış mekanizmasının tam belli olmadığı için, TSA'nın tümör markırı olarak değilde, genel bir hastalık belirteci olarak kullanılmasının daha yararlı olacağı ortaya konulmuştur (Thougaard ve ark., 1998).

Thougaard ve ark. (1999), tümörlü köpeklerde serumda α 1-asit glikoprotein (AGP) ve TSA arasındaki korelasyonu araştırdıkları başka bir çalışmalarında, tümörlü köpeklerde serum AGP ve TSA konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bulunmuşlardır. Bu nedenle AGP molekülünün sialilasyonunun artmasının serum TSA düzeyindeki yükselmeye katkı sağladığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada serum TSA ortalaması sağlıklı köpeklerde 8.25±0.92 mg/dl ve dirofilariosisli köpeklerde 11.23±2.65 mg/dl olarak tespit edildi. İstatistiki analiz sonucu dirofilariosisli köpeklerde TSA seviyesinin sağlıklı olanlara göre önemli derecede yüksek olduğu belirlendi. Dirofilariosis sonucu serum TSA seviyesindeki artış, oligosakkarit yan zincirinin terminal pozizyonunda sialik asit kalıntıları içeren AFP'lerin artmış sentezinden kaynaklanmış olabilir. Çünkü dirofilariosiste köpeklerde hem artan oksijen gereksiniminin karşılanması, hem de meydana gelen doku hasarına cevap olarak serumda AFP'lerin miktarında artış olduğu bildirilmiştir (Carretón ve ark., 2014).

Bu çalışmada serum LSA ortalaması sağlıklı köpeklerde 2.00±0.90 mg/dl ve dirofilariosisli köpeklerde 4.02±1.13 mg/dl olarak tespit edildi. İstatistiki analiz sonucu dirofilariosisli köpeklerde LSA seviyesinin sağlıklı olanlara göre önemli derecede yüksek olduğu belirlendi. Sialik asitlerin % 85-90'lık büyük bir kısmı proteine bağlıdır. Gerikalan % 10-15 lik kısmı ise lipide bağlıdır. Sialik asitin küçük bir kısmı lipide bağlı olduğundan, dirofilariosiste AFP düzeyindeki artış yalnızca proteine bağlı sialik asit fraksiyonunu arttırır ancak lipide bağlı fraksiyonu etkilemez. Bu nedenle dirofilariosisde gözlenen serum LSA düzeyindeki artış, karaciğerde sialik asit içeren lipoprotein sentezinin artmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim çalışmamızda dirofilariosisli köpeklerde VLDL ve LDL seviyelerinin arttığı tespit edildi. Ayrıca LDL seviyesindeki artışın referans değerinden yüksek olduğu saptandı.

Bununla birlikte yapılan çalışmalarda oksidan/antioksidan oranındaki dengenin oksidanlar lehine kayması ile oluşan oksidatif stresin köpek dirofilariosisinin patogenezinde önemli bir role sahip olduğu belirtilmiştir (Aslan ve ark., 2010; Dimri ve ark., 2012). Bu nedenle dirofilariosiste doku zedelenmesine eşlik eden oksidatif stres de sialik asit kalıntılarının hücre yüzeyindeki oligosakkaritlerden ayrılmasında rol oynayarak serum sialik seviyesindeki artıştan sorumlu olabilir. Serum sialik asit seviyesinde meydana gelen artışlar kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli belirteçteçlerdir (Taşkın, 2017). Bundan dolayı TSA ve LSA seviyelerinde tepit edilen bu önemli artış dirofilariosise bağlı olarak meydana gelen koroner lezyonun şiddeti hakkında önemli bilgi verebilir.

Sonuç olarak; dirofilariosisli köpeklerde sialik asit düzeylerinde, bazı biyokimyasal, venöz kan gazı ve hematolojik parametrelerde istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu saptandı.

KAYNAKLAR

Altıntaş A, Kurtdede A, Fidancı UR, Börkü MK. Köpek gençlik hastalığında (distemper) serum sialik asit ve protein düzeylerinin klinik önemi. A Ü Vet Fak Derg. 1989; 36 (1): 154-164.

Anonim (2020). http: //vetlab.com/Canine%20and%20Feline%20Normal%20Values.pdf. Erişim tarihi 15.06.2020.

Aronson S. Renal fuction monitoring. In: Miller RD. Miller's Anesthesia (6. Edition). Caifornia: Elsevier. 2005.

Aslan O, Yildirim A, Kanbur M, Altinordu S. Detection of some biochemical and lipid peroxidation parameters in *Dirofilaria immitis* infected dogs. J Anim Vet Advan. 2010; 9 (5): 954-7.

Atasoy ME. Diyabetes Mellitus Tip 2'de Bazı Antioksidan Enzim Aktivitelerinin ve Biyokimyasal Kan ve İdrar Parametrelerinin İncelenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara. Hacettepe Üniversitesi. 2008.

Atkins C. Canine heartworm disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC (editörler). Textbook of Veterinary Internal Medicine, 6 th ed. St. Louis, Elsevier. 2005.

Atyha AH, Alani DAA. Study the effects of naturally acquired canine dirofilariasis on some hematological and biochemical parameters. Iraqi J Vet Sci. 2017; 41(1):104-108.

Bakırel U, Guneş S. Value of cardiac markers in dogs with chronic mitral valve disease. Acta Veterinaria. 2009; 59(2-3): 223-9.

Balıkçı E. Dirofilariosisli köpeklerin bazı klinik, hematolojik, biyokimyasal ve elektrokardiyogram bulguları. FÜ Sağlık Bil Derg. 2005; 19(1): 43-8.

Bayşu Sözbilir N, Bayşu N. Biyokimya. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri. 2008.

Borthakur SK, Ali MA, Patra G. Clinical, haematological and biochemical studies on *Dirofilaria immitis* in dog. J Vet Parasitol. 2011; 25: 63– 6.

Börkü MK, Kurtdede A, Azizoğlu D, Kilit M. *Dirofilaria immitis* ile doğal enfekte köpeklerde thiacetarsamide sodium uygulamaları. AÜ Vet Fak Derg. 1996; 43(2): 247-56.

Buschiazzo A, Alzari PM. Structural insight into sialic acid enzymology. Curr Opin Chem Biol. 2008; 12: 565–2.

Carretón E, Corbera JA, Juste MC, Morchón R, Simón F, Montoya-Alonso JA. *Dirofilaria immitis* infection in dogs: cardiopulmonary biomarker levels. Vet Parasitol. 2011; 176(4): 313-6.

Carretón E, Grandi G, Morchón R, Simón F, Passeri B, Cantoni AM, et al. Myocardial damage in dogs affected by heartworm disease (*Dirofilaria immitis*): immunohistochemical study of cardiac myoglobin and troponin I in naturally infected dogs. Vet Parasitol. 2012; 189 (2-4): 390-3.

Carretón E, Morchón R, González-Miguel J, Juste MC, Simón F, Montoya-Alonso JA. Utility of cardiac biomarkers during adulticide treatment of heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in dogs. Vet Parasitol. 2013; 197 (1-2): 244-50.

Carretón E, Morchón R, Simón F, Juste MC, Méndez JC, Montoya-Alonso JA. Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in the assessment of the severity of canine dirofilariosis. Vet Parasitol. 2014; 206 (1–2): 43–7.

Champe PC, Harvey RA. Biyokimya. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 1997.

Dimri U, Singh S, Sharma M, Behera S, Kumar D, Tiwari P. Oxidant/antioxidant balance, minerals status and apoptosis in peripheral blood of dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. Res Vet Sci. 2012; 93: 296–9.

Doğanay A, Öğe H, Öğe S, Yıldız K, Vural G. Helmintoloji. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri. 2018.

Engen RL. Serum sialic acid values in dogs with canine distemper. Amer J Vet Res.1971; 32(5): 803-4.

Eroğlu F. İnsanlarda hastalık yapan dirofilaria türleri ve dirofilariasis. Sağlık Akademisi Kastamonu. 2017; 2(3): 232-41.

Ertekin A, Keleş I, Ekin S, Karaca M, Akkan HA. Kan parazitli hayvanlarda sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeylerinin araştırılması. YYU Vet Fak Derg. 2000; 11 (1): 34-5.

Esievo KA, Saror DI, Ilemobade AA, Hallaway MH. Variation in erythrocyte surface and free serum sialic acid concentrations during experimental *Trypanosoma vivax* infection in cattle. Res Vet Sci. 1982; 32(1): 1-5.

Fırat İ, Gülçubuk A, Çetinkaya H. İstanbul'da üç köpekte *Dirofilaia İmmitis* olgusu. İ Ü Vet Fak Derg. 2005; 31(1): 187-193.

Gazyagci S, Dogru MT, Yagi BB. Cardiac troponin I levels in dogs with dirofilariosis and without dirofilariosis. Asian J Anim Vet Adv. 2011; 6: 738-43.

Gioia G, Lecová L, Genchi M, Ferri E, Genchi C, Mortarino M. Highly sensitive multiplex PCR for simultaneous detection and discrimination of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in canine peripheral blood. Vet Parasitol. 2010; 172(1-2): 160-3.

Goggin JM, Biller DS, Rost CM, DeBey BM, Ludlow CL. Ultrasonographic identification of *Dirofilaria immitis* in the aorta and liver of a dog. JAVMA. 1997; 210: 1635-7.

Gözükara E. Biyokimya. Ankara: Ofset Repromat Ltd Şti. 1989.

Guyton AC, Hall J. Tıbbî fizyoloji. Türkçe çeviri Hayrünnisa Çavuşoğlu. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2001.

Ionica AM, MateiIA, D'Amico G, Daskalaki AA, Jurankova J, Ionescu DT, et al. Role of golden jackals (Canis aureus) as natural reservoirs of dirofilaria spp in Romania. Parasit Vectors. 2016; 9: 240.

Jacobs RM, Lums den JH, Vernau W. Canine and feline reference values. In: Current Veterinary Therapy XI Small Animal Practice. Philadelphia, 1992.

Karagenç T, Ilhan Ç, Kargın Kıral F, Seyrek K, Bildik A, Eren H. Detection of serum total sialic acid in cattle with natural tropical theileriosis. Revue Méd Vét. 2005; 156 (11): 578-82.

Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T. Klinik biyokimya. Ankara: Medisan Yayınevi. 2000.

Katopodis N, Hirshaut Y, Geller NL, Stock CC. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. Cancer Res. 1982; 42(12): 5270-5.

Keha EE, Küfrevioğlu Öİ. Biyokimya. Erzurum: Aktif Yayınevi. 2005.

Keleş İ, Ertekin A, Karaca M, Ekin S, Akkan HA. Sığırların leptospirozisinde serum sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeyleri üzerine araştırma. YYÜ Vet Fak Derg. 2000; 11: 121-2.

Kelm S, Schauer R. Sialic acids in molecular and cellular interactions. Int Rev Cytol. 1997; 175: 137–240.

Kına O. *Dirofilaria immitis'* li Köpeklerde Paraoksonaz Aktivitesi ve Lipid Profilinin Belirlenmesi [Yüksek lisans tezi]. Hatay. Mustafa Kemal Üniversitesi. 2009.

Kitagawa H, Yasuda K, Sasaki Y. Blood gas analysis in dogs pulmonary heartworm disease. J Vet Med Sci. 1993; 55(2): 275- 80.

Laçin M. Baş Boyun Epidermoid Karsinomalı Hastalarda Ferritin, LSA, CEA, Yassı Hücreli Karsinoma, Antijen (SCC) ve CYFRA 21-1'in Tümör Markeri Olarak Değerinin Araştırılması [Uzmanlık Tezi]. Ankara. Gazi Üniversitesi. 2001.

Loria AD, Dattilo V, Santoro D, Guccione J, De Luca A, Ciaramella P, et al. Expression of serum exosomal mi RNA 122 and lipoprotein levels in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: A preliminary study. Animals. 2020; 10 (1): 100.

Meral Y, Bakırel U, Çakıroğlu D. Bir köpekte kalp kurdu hastalığının (*Dirofilaria immitis*) ekokardiyografik teşhisi. JIVS. 2007; 3: 1-10.

Mert H, Kozat S, Ekin S, Mert N, Yörük İH. Serum sialic acid, lipid-bound sialic acid levels in sheep naturally chronic infected with *Fasciola hepatica*. Y Y Ü Sağlık Bil Derg. 2006; 9: 40-6.

Mert N. Veteriner klinik biyokimya. Bursa: Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayını.1996.

Montoya JA, Morales M, Juste MC, Bañares A, Simon F, Genchi C. Seroprevalence of canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) on Tenerife Island: an epidemiological update. Parasitol Res. 2006;100(1): 103-5.

Morow DA, Rıfai N, Tanasijevic MJ, Wybenga DR, Lemos JA, Antman EM. Clinical efficasy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndroms: A trombolysis in myocardial infarction (TIMI) IIB substudy. Clin Chem. 2000; 46(4): 453-60.

Nagdyman N, Grimmer I, Schols T, Muller C, Obladen M. Predictive value of brain-specific proteins in serum for neurodevelopmental outcome after birth asphyxia. Pediatric Res. 2003; 54: 270-5.

Niwetpathomwat A, Assarasakorn S, Techangamsuwan A, Suvarnavibhaja S, Kaewthamasorn M. Canine dirofilariosis and concurrent tick-borne transmitted diseases in Bangkok, Thailand. Comp Clin Pathol. 2006; 15(4): 249-53.

Niwetpathomwat A, Kaewthamasorn M, Tiawsirisup S, Techangamsuwan S, Suvarnvibhaja S. A retrospective study of the clinical hematology and the serum biochemistry tests made on canine dirofilariasis cases in an animal hospital population in Bangkok, Thailand. Res Vet Sci. 2007; 82(3): 364-9.

Ok M, Öztürk AS, Er C. Üç köpekte konjestif kalp yetmezliği. Eurasian J Vet Sci. 2010; 26 (1): 57-62.

Pasca SA, Acatrinei D, Oprean OZ, Lazar M. Vascular, hepatic and renal lesions by *Dirofilaria immitis* invasion in dogs. Arq Bras Med Vet Zootec. 2012; 64: 841-6.

Ranjbar-Bahadori S, Mohri M, Helan JA, Jamshidi K, Kashefinejad M. Clinico-pathologic evaluation of the canine heartworm infestation. Res J Parasitol. 2010;5: 90-8.

Salmanoğlu B, Bozdoğan Ö. Köpeklerde deneysel miyokard enfarktüsünde serum lipid, kolesterol, glikoz, Na, K ve Ca düzeyleri. A Ü Vet Fak Derg. 1991; 38 (3): 266-83.

Sarali H. Köpeklerdeki Dirofilaria Türlerinde Wolbachia'nın Belirlenmesi. [Doktora]. Aydın. Adnan Menderes Üniversitesi. 2009.

Saritaş ZK, Akin F, Şahal M, Öcal N. Open heart surgery applications in dogs suffering from natural infection of *Dirofilaria immitis*. Turk J Vet Anim Sci. 2005; 29: 713-21.

Schauer R, Kamerling JP. Chemistry and biochemistry of sialic acids. In: Montreuil J, Vliegenhart JFG, Schacter H, editors. Glycoproteins II. Amsterdam: Elsevier. 1997.

Sevimli KF, Kozan E, Bülbül A, Birdane MF, Köse M, Sevimli A. *Dirofilaria immitis* infection in dogs: unusually located and unusual findings. Parasitol Res. 2007; 101:1487–94.

Sheehan P, Vasikaran SD. The evolving clinical role of cardiac troponins and new acute miyokardial infarction guidelines: Implications for the clinical laboratory. Clin Bichemist Rev. 2001; 23: 52-65.

Singh B, Choudhuri PC, Joshi HC. Serum mucoprotein and sialic acid in enzootic bovine haematuria . J Vet Med A. 1980; 27: 678-81.

Sribhen C, Kasemsant N, Kaewmokul S, Sribhen K. Blood chemistry profile and cardiac troponin T concentration in Thai Stray dogs infected with heartworms. Kasetsart J Nat Sci. 1999; 33: 251–7.

Surangkul D, Pothachareon P, Suttajit M, Kongtawelert P. A periodate-resorcinol microassay for the quantitation of total sialic acid human serum. Chiang Mai Med Bull. 2001; 40(3): 111-8.

Sydow G, Wittmann W, Bender E, Starick E. The sialic acid content of the serum of cattle infected with bovine leukosis virus. Arch Exp Vet med. 1988; 42: 194-7.

Şahal M, Özlem M, Tanyel B, Öcal N, Sel T. Köpeklerdeki dirofilariosis olgularında kan, idrar ve abdominal sıvıda biyokimyasal değişiklikler. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1997; 44: 267-76.

Tabrizi BA. Evaluation of calcium, phosphorus and alkaline phosphatase in *Dirofilaria immitis* infection in dogs. World J Zool. 2012; 7(1): 79-82.

Taşçı TG, Kılıç Y. Kars ve Iğdır civarındaki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı ve potansiyel vektör sivrisinek türleri üzerine araştırmalar. Kafkas Üniv Vet Fak Derg. 2012; 18: 29-34.

Taşkın E. Ellajik Asitin Miyokart İnfarktüsü Oluşturulmuş Ratlarda Sialik Asit Düzeyleri ve Lipit Profili Üzerine Etkisi. [Yüksek lisans tezi]. Van. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi. 2017.

Taylor MA, Coop R, Wall R.Veterinary parasitology, 3rd edn. Blackwell, London. 2007.

Thougaard AV, Hellmen E, Jensen AL. Total serum sialic acid is a general disease marker rather than a specific tumour marker in dogs. J Vet Med A. 1998; 45(8): 471-9.

Thougaard AV, Hellmen E, Pedersen HD, Jensen AL. Correlation between alpha 1-acid glikoprotein and total sialic acid in serum from dogs with tumours. J Vet Med A. 1999; 46: 231-7.

Tosun GA, Tutluoğlu B. Arter kan gazları ve asit baz dengesi. Solunum. 2000; 2: 201-10.

Uygun A, Polat Z. Viral hepatit dışı serum transaminaz düzeyinde artışa neden olan hastalıklar. Güncel Gastroenteroloji. 2009;13(4): 211-24.

Voyvoda H, Sekin S, Karaca M. Therapeutic efficacy of ooramectin and levamisole in *Dirofilaria immitis* infected dogs and changes of some blood parameters. YYÜ Vet fak Derg. 1996; 7(1-2): 26-34.

Yarım GF, Umur Ş, Acici M, Beyhan, YE. Serum sialic acid levels in cattles with cystic echinococcosis. Ankara Üni Vet Fak Derg. 2010; 57(1): 61-3.

Yılmaz B. Fizyoloji. Ankara: Feryal Matbaacılık. 2000.

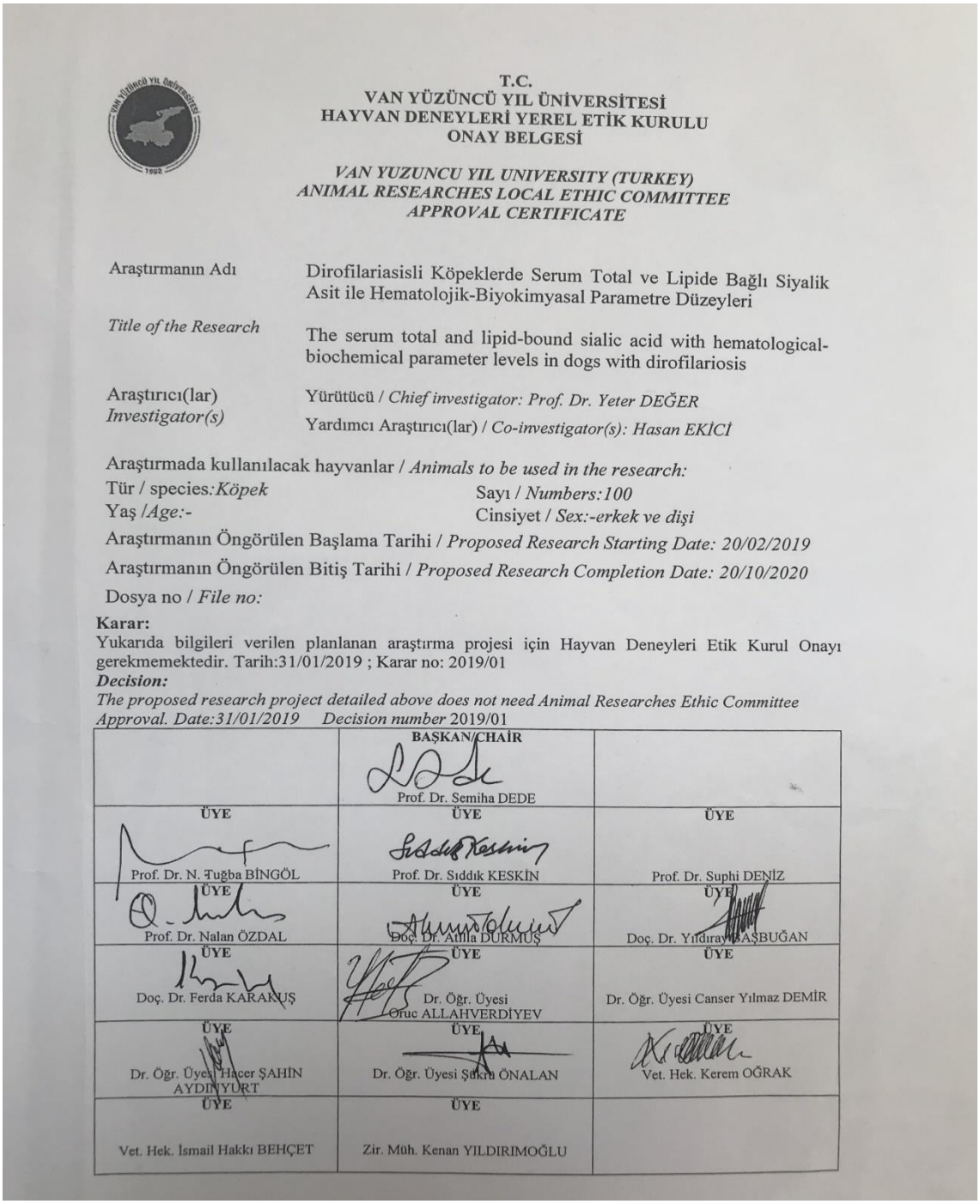
Yoon WK, Kim YW, Suh SL, Choi R, Lee SG, Hyun C. Evaluation of cardiopulmonary and inflammatory markers in dogs with heartworm infection during treatment with the 2014 American Heartworm Society recommended treatment protocol. Parasit Vectors. 2017; 10(2): 535.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Diyarbakır'ın Silvan ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Silvan'da tamamladı. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu'nda 2011-2015 yılları arasında eğitim gördü. 2016 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi'ne hemşire olarak atandı, halen aynı hastanede çalışmaktadır. 2017 yılında, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (Veteriner Programı) Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ONAY BELGESİ

VAN YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı — Dirofilariasisli Köpeklerde Serum Total ve Lipide Bağlı Siyalik Asit ile Hematolojik-Biyokimyasal Parametre Düzeyleri

Title of the Research — The serum total and lipid-bound sialic acid with hematological-biochemical parameter levels in dogs with dirofilariosis

Araştırıcı(lar) / *Investigator(s)*
Yürütücü / *Chief investigator: Prof. Dr. Yeter DEĞER*
Yardımcı Araştırıcı(lar) / *Co-investigator(s): Hasan EKİCİ*

Araştırmada kullanılacak hayvanlar / *Animals to be used in the research:*
Tür / species:*Köpek* Sayı / *Numbers:100*
Yaş /*Age:-* Cinsiyet / *Sex:-erkek ve dişi*
Araştırmanın Öngörülen Başlama Tarihi / *Proposed Research Starting Date: 20/02/2019*
Araştırmanın Öngörülen Bitiş Tarihi / *Proposed Research Completion Date: 20/10/2020*
Dosya no / *File no:*

Karar:
Yukarıda bilgileri verilen planlanan araştırma projesi için Hayvan Deneyleri Etik Kurul Onayı gerekmemektedir. Tarih:31/01/2019 ; Karar no: 2019/01

Decision:
The proposed research project detailed above does not need Animal Researches Ethic Committee Approval. Date:31/01/2019 Decision number 2019/01

	BAŞKAN/CHAİR Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	**ÜYE** Prof. Dr. Sıddık KESKİN	**ÜYE** Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE Prof. Dr. Nalan ÖZDAL	**ÜYE** Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	**ÜYE** Doç. Dr. Yıldıray BAŞBUĞAN
ÜYE Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	**ÜYE** Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV	**ÜYE** Dr. Öğr. Üyesi Canser Yılmaz DEMİR
ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDINYURT	**ÜYE** Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN	**ÜYE** Vet. Hek. Kerem OĞRAK
ÜYE Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	**ÜYE** Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	

Ek 2. Tez Orijinallik Raporu

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

YÜKSEKLİSANS TEZİ ORİJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	**DİROFİLARİOSİSLİ KÖPEKLERDE SERUM TOTAL VE LİPİDE BAĞLI SİALİK ASİT İLE HEMATOLOJİK-BİYOKİMYASAL PARAMETRE DÜZEYLERİ / VETERİNER BİYOKİMYA**

İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları

Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
1	3	17	26	47

İntihal taraması yapılan program	Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %
Turnitin	21 / 05 / 2020	%13

***Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:**

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyiinceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihaliçermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabulettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Hasan KESİCİ

Öğrencinin Adı Soyadı	Hasan KESİCİ
Anabilim Dalı	Biyokimya
Öğrenci No	1793001025
Programı	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN ONAYI	ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR	UYGUNDUR
(Prof. Dr. Yeter DEĞER)	Doç. Dr. Hamit Hakan ALP Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Yardımcısı (Unvan, Ad Soyad, İmza)