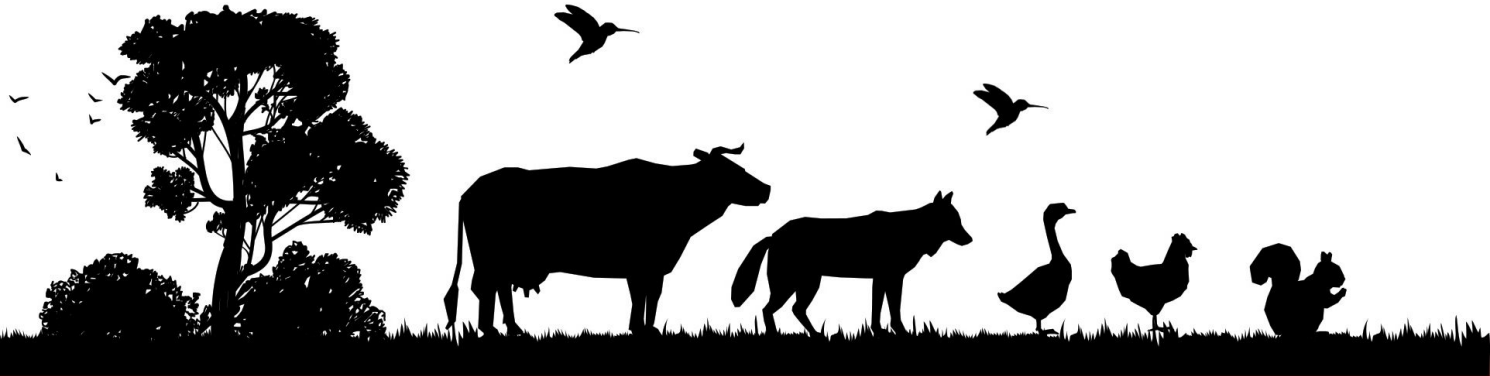


GÜNCEL VETERİNER HEKİMLİĞİ ÇALIŞMALARI

KAVRAMLAR, ARAŞTIRMALAR VE UYGULAMALAR II



Editörler

Akın KIRBAŞ & Seçil SEVİNÇ TEMİZKAN

Sema ÇAKIR BAYRAK



LIVRE DE LYON

2023

Veteriner Hekimliği

Güncel Veteriner Hekimliği Çalışmaları

Kavramlar, Araştırmalar ve Uygulamalar-II

Editörler

**Akın KIRBAŞ & Seçil SEVİNÇ TEMİZKAN
Sema ÇAKIR BAYRAK**



LIVRE DE LYON

Lyon 2023

Güncel Veteriner Hekimliği Çalışmaları

Kavramlar, Araştırmalar ve Uygulamalar-II

Editörler

**Akın KIRBAŞ & Seçil SEVİNÇ TEMİZKAN
Sema ÇAKIR BAYRAK**



LIVRE DE LYON

Lyon 2023

Güncel Veteriner Hekimliği Çalışmaları Kavramlar, Araştırmalar ve Uygulamalar-II

Editors • Assoc. Prof. Dr. Akın Kırbaş • Orcid: 0000-0001-9159-3240
Asst. Prof. Dr. Seçil Sevinç Temizkan • Orcid: 0000-0002-2427-3877
Asst. Prof. Dr. Sema Çakır Bayrak • Orcid: 0000-0003-0355-8897

Cover Design • Motion Graphics
Book Layout • Motion Graphics
First Published • March 2023, Lyon

ISBN:978-2-38236-539-7

copyright © 2023 by **Livre de Lyon**

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without prior written permission from the Publisher.

Publisher • Livre de Lyon
Address • 37 rue marietton, 69009, Lyon France
website • <http://www.livredelyon.com>
e-mail • livredelyon@gmail.com



LIVRE DE LYON

ÖNSÖZ

Veteriner Hekimlik yalnızca hayvan sağlığı ile değil aynı zamanda hayvansal gıdaların uygun şekilde insan tüketimine sunulması ve dolayısıyla halk sağlığı ile doğrudan ilişkili bir meslek grubudur. Sağlıklı insan, sağlıklı hayvan ve sağlıklı bir dünya için çalışan Veteriner Hekimlik mesleği etik değerlere bağlı bilimsel yaklaşımlarla sağlık alanında hizmet sunmaktadır. Veteriner Hekimlik mesleği, fizyolojik, metabolik ve anatomik olarak farklı birçok hayvan türü ile ilgilenmektedir. Bu türler arasında kanatlılar, memeliler, sürüngenler, sıcakkanlılar, soğukkanlılar, kara hayvanları ve deniz hayvanları gibi çok geniş yelpazede hizmet vermektedir. Bu canlıların her birinin sağlıklı yaşam alanlarının oluşturulması ekosistem içerisinde önemli yer tutmaktadır. Ekonomik değeri olan büyük baş, küçükbaş ve kümes hayvanları gibi evcil hayvanların yanı sıra pet hayvanları da insan hayatında büyük bir yeri kaplamaktadır. Birçok evde kedi ve köpekle birlikte yaşıyor olması, onların ihtiyacı olan yaşam standartlarının da sağlanması koşulunu beraberinde getirmektedir. Bununla birlikte; insan sağlığı ve hayvan sağlığı birbiri ile ilişkili kavramlardır. İnsan enfeksiyonlarından sorumlu patojenlerin büyük çoğunluğu hayvansal kaynaklı olup, bu patojenler “zoonoz enfeksiyonlar” ile sonuçlanmaktadır. Hayvan sağlığını olumsuz etkileyen faktörler arasında bakteriyel, viral, paraziter ve fungal hastalıkların yanı sıra metabolik hastalıklar da önem taşımaktadır. Her geçen gün hayvan sağlığını tehdit eden patojenlere bir yenisi eklenmektedir. Bu durum; küresel ısınma, hayvansal gıda arzında yaşanan sorunlar, hayvansal göçler, kontrolsüz hayvan hareketliliği ve insanların hayvanların yaşam alanlarına doğru yayılımı gibi faktörlerle açıklanabilmektedir. Kitabın hazırlanmasında emeği geçen bilim insanlarına teşekkür ederiz.

Doç. Dr. Akın KIRBAŞ

*Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı-YOZGAT
ORCID:0000-0001-159-3240*

Dr. Öğr. Üyesi Seçil SEVİNÇ TEMİZKAN

*Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Viroloji Anabilim Dalı-YOZGAT
ORCID: 0000-0002-2427-3877*

Dr. Öğr. Üyesi Sema ÇAKIR BAYRAK

*Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Cerrahi Anabilim Dalı-YOZGAT
ORCID: 0000-0003-0355-8897*

İÇİNDEKİLER

	ÖNSÖZ	1
BÖLÜM I.	KEDİ VE KÖPEKLERDE BEYİN OMURİLİK SIVISI: MUAYENE VE ANALİZ	1
	<i>Şükrü DEĞİRMENÇAY</i>	
BÖLÜM II.	SİĞİR TÜBERKÜLOZU	21
	<i>Nevin TUZCU</i>	
BÖLÜM III.	KÖPEKLERDE OTOİMMUN HASTALIKLAR	41
	<i>Ömer KIZIL</i>	
BÖLÜM IV.	STOMATİTİSLİ KEDİ VE KÖPEKLERDE DÜŞÜK ENERJİLİ LAZER TERAPİSİ	69
	<i>Sıtkıcan OKUR</i>	
BÖLÜM V.	ÇİFTLİK HAYVANLARINDA ABORTUS	83
	<i>Yavuz MUSABEŞEOĞLU & Reyda KIYICI & Hasan Altan AKKAN & İbrahim TAŞAL & Mehmet KARACA</i>	
BÖLÜM VI.	KÖPEK MEME TÜMÖRLERİNDE GÜNCEL TANI YÖNTEMLERİ	105
	<i>Zeynep OCAKOĞLU & Kudret YENİLMEZ</i>	
BÖLÜM VII.	BOR VE HAYVAN SAĞLIĞI	135
	<i>Ahmet Cihat TUNÇ & Mustafa KABU</i>	
BÖLÜM VIII.	KÖPEKLERİN MİKSOMATÖZ MİTRAL KAPAK HASTALIĞI	145
	<i>Durmuş Fatih BAŞER & Zeynep ÇAKMAK</i>	
BÖLÜM IX.	GEN EKSPRESYONU ANALİZİNDE REAL-TİME KANTİTATİF PCR	153
	<i>Ali Osman TURGUT</i>	
BÖLÜM X.	SİĞİRLARDA SKORLAMA YÖNTEMLERİ	169
	<i>Ahmet Cihat TUNÇ & Mustafa KABU & Fatih Mehmet BİRDANE</i>	
BÖLÜM XI.	KEDİLERDE HİPERTROFİK KARDİYOMİYOPATİ	187
	<i>Durmuş Fatih BAŞER & Nurdan Yaren ARIBURNU</i>	

BÖLÜM I

KEDİ VE KÖPEKLERDE BEYİN OMURİLİK SIVISI: MUAYENE VE ANALİZ

Cerebrospinal Fluid in Dogs and Cats: Examination and Analysis

Şükrü DEĞİRMENÇAY

(Dr. Öğr. Üyesi), Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye
e-mail: s.degirmencay@atauni.edu.tr
ORCID: 0000-0002-3920-6343

1. Giriş

Beyin omurilik sıvısı (BOS)'nın doğru analizi nörolojik hastalıklar hakkında çok çeşitli bilgiler sağlar. Beyin veya omurilikte enfeksiyöz veya enflamatuvar bir hastalıktan, neoplazi veya dejeneratif bozukluklardan şüphelenildiğinde BOS örnekleri toplanmalı ve analiz edilmelidir. (1,2) BOS, serebellomedüller sistem (CMC) veya lomber subaraknoid boşluk (LSS)'tan toplanabilir. (3) Genel anestezi altında ve aseptik teknik kullanılarak alınması gereken BOS'un teknik olarak CMC'den toplanması daha kolaydır, akış hızı lomber boşluğa göre CMC'de daha hızlıdır ve alınan sıvı miktarı daha fazladır. (1) Kedi ve köpeklerde her 5 kg vücut ağırlığı başına 1 ml'den fazla BOS toplanmamalıdır. (4) Alınan BOS numuneleri steril düz tüplerde toplanır. Total protein konsantrasyonunu yanlış bir şekilde artıracağından dolayı rutin örneklemeler için EDTA'lı tüpler önerilmez. (5) Protein ve hücresel incelemeler için genellikle 0,75–2 mL sıvı yeterlidir. (6) Çoğu laboratuvarında 0,5 mL BOS ile protein seviyeleri, sitoloji ve hücre sayımları rahatça değerlendirilebilir. (1) Alınan BOS örneklerinde genel olarak fiziksel, sitolojik, kimyasal ve bakteriyolojik muayeneler yapılır. (7) BOS örneklerinin analizi anamnez, klinik bulgular ve ileri görüntülemeler ile birlikte nadiren kesin bir tanı sağlasa da beyin

ve omuriliğin enflamatuar, enfeksiyöz, travmatik, neoplastik veya dejeneratif bozuklukları gibi merkezi sinir sistemi (MSS) bozukluklarının teşhisinde destekleyici olarak kullanılabilir. (1)

2. Beyin Omurilik Sıvısının Fiziksel Muayenesi

2.1. Renk

Merkezi sinir sisteminin korunması, beslenmesi ve desteklenmesinde önemli rollere sahip ve MSS'yi çevreleyen ve içine nüfuz eden bir plazma ultrafiltratı olan BOS, berrak ve renksizdir. (8) Renkteki herhangi bir değişiklik genellikle bir anormallığı gösterir. Pembe veya kırmızı renklenme kanın varlığını düşündürür. Santrifüj işlemi sonrası, tüpün dibinde kırmızı bir hücre peleti oluşur ve süpernatant renksiz olursa bu renklenme, iatrojenik periferik kan kontaminasyonu veya subaraknoid boşlukta yakın bir zamanda (birkaç saat) oluşan kanama kaynaklı eritrositlerin varlığına işaret eder. (6) BOS örneklerinin sarı ile sarı-turuncu renkte olması daha önceki bir kanama sonucu mevcut eritrositlerin parçalanmasına, eritrosit bozulmasından türetilen oksihemoglobin veya methemoglobin birikimine, protein yükselmesine (örn. feline enfeksiyöz peritonitis), hiperbilirubinemiye, MSS'nin enflamasyonuna veya neoplazilere bağlı olabilir. (6,9–11) BOS'un bu renkte olmasına ksantokromi denir ve özellikle kanama durumlarında rengin yoğunluğu 1 gün sonra zirve yapar ve 4-8 gün sonra kaybolur. (12) Steroid yanıtı menenjitis-arteritis (SRMA) (13–16), fibrokartilaginöz emboli (17,18), omurilik travması (19), intervertebral disk hastalığı (IVDD) (20,21), alg (22) ve parazit (23) enfeksiyonlarında BOS renginin açık-ksantokromik renk arasında olduğu bildirilmiştir.

2.2. Görünüm

Berrak olan BOS'un bulanık olması, sıvıdaki partiküllere atfedilir ve tipik olarak numunenin artan selülaritesinden kaynaklanır. (24) Hücrelerin, bakterilerin veya yağın varlığına bağlı olarak BOS'un görünümü bulanıklaşır. Bulanıklık, en az 200 lökosit (WBC)/ μ L veya 700 eritrosit (RBC)/ μ L mevcut olduğunda veya toplamda en az 500 hücre/ μ L mevcut olduğunda oluşur. (5,25) Bununla birlikte hücre sayısı 100 ila 5000 hücre/ μ L aralığına gelene kadar bulanıklıktaki bir değişiklik tespit edilmeyebilir. Bu nedenle, BOS'un fiziksel muayenesi inflamatuvar hastalıkları tespit etmek için yeterli değildir. (11) Bakteriyel (26) ve fungal enfeksiyonlarda (27), etiyojisi bilinmeyen meningoensefalitlerde (14,28) BOS'un görünümü açık-bulanık arasında değişir.

3. Beyin Omurilik Sıvısının Kantitatif Analizi

3.1. Hücre Sayısı

Normal ve anormal BOS örneklerinde standart hematolojik analizle tespit edilemeyecek kadar düşük hücresel konsantrasyon olduğu için hücre sayımları hemositometre (Neubauer veya Fuchs-Rosenthal) kullanılarak yapılır. (1,11) Bununla birlikte manuel sayım ile BOS örneklerinde hücre sayımı belirsizliğe eğilimli olduğu için manuel yöntemlerle yüksek korelasyon gösteren hematoloji cihazları ile de hücre sayımı yapılabilmektedir. Bu cihazlarla yapılan analizlerde toplam çekirdekli hücre sayısı (TNCC) düşük olduğunda özellikle monositlerle ilgili problem yaşansa da genel olarak TNCC ve RBC sayımında manuel yöntemlere eşdeğer veya biraz daha yüksek hassasiyet bildirilmiştir. (29)

Modifiye edilmiş Fuch's Rosenthal hemositometresinde dokuz büyük karenin (gölgeli alan) beşindeki hücreler sayılır. Bu, mm^3 veya μL başına düşen hücre sayısını verir. Eritrositler ve çekirdekli hücreler ayrı ayrı sayılır ve beyaz kan hücrelerinin tanımlanması için kristal viyole veya metilen mavisi eklenebilir. (1,11) Genel olarak, eritrositler çekirdekten ve içyapıdan yoksunken, lökositler daha büyüktür ve granüler bir görünüme sahiptir. (30)

Toplam çekirdekli hücre sayısının köpeklerde <6 hücre/ μL ve kediler için <8 hücre/ μL olduğu bildirilmiştir. Farklı ırk ve cinsiyette, klinik ve histopatolojik olarak normal olan 31 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada, hem CMC hem de LSS'ten alınan numunelerde 0-4 hücre/ μL olduğu bildirilmiştir. (31) Lomber numunelerin hücre sayısı ortalaması önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Klinik ve histopatolojik olarak sağlıklı 33 kedinin CMC'den alınan BOS örneklerinde, 0-2 hücre/ μL varlığı bildirilmiştir. (32)

3.2. Protein Konsantrasyonu

BOS, seruma göre son derece düşük bir protein konsantrasyonuna sahiptir ve BOS'taki proteinin yaklaşık %80-90'ını albümin oluşturur. (33,34) Köpeklerde ve kedilerde insanlarda olduğu gibi total protein (TP) konsantrasyonu nöraksis boyunca rostro-kaudal olarak artar ve bu nedenle lomber boşluktan alınan BOS örnekleri CMC ile karşılaştırıldığında tipik olarak daha yüksek bir proteine ve daha düşük çekirdekli hücre konsantrasyonuna sahiptir. (31) Nörolojik hastalığı olan ve olmayan 53 köpek üzerinde yapılan prospektif bir çalışmada, lomber bölgedeki protein düzeyleri CMC'den anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. (35) Bu durum BOS'un lomber bölgede daha yavaş akış hızına sahip olması sonucu lokal protein birikiminin şekillenmesi ile açıklanabilir. (3)

BOS'ta TP konsantrasyonu CMC'de 25–30 mg/dL'yi ve LSS'te 45 mg/dL'yi geçmemelidir. (1,8,31) Ancak BOS'un TP konsantrasyonu için referans aralıkları, kullanılan laboratuvara ve test yöntemine göre değişebilir. İdrar stripleri, BOS'un protein konsantrasyonunu tahmin etmeye yönelik bir ilk ön tarama testi olarak yararlı olabilir. Bu test albümin tespiti için oldukça spesifikken globulin tespiti için daha az spesifiktir. Yalancı pozitif ve yalancı negatif test sonuçları, idrar striplerinde eser miktarda veya 1+ protein varlığında ortaya çıkabilir. Bununla birlikte, 2+ veya üzerindeki sonuçlar güvenilir bir şekilde TP konsantrasyonundaki gerçek bir artışı temsil eder. (36)

3.3. Albumin, Albümin Quotient, Gama-Globulinler ve IgG İndeksi

BOS'ta albümin konsantrasyonu serum albümin konsantrasyonundan çok daha düşüktür. BOS'un protein analizi ile ilişkili olarak hesaplanan çeşitli değerler vardır. Bunlar; Albümin quotient (AQ) ve IgG indeksidir. $AQ = (BOS \text{ albümin/serum albümin}) \times 100$ olarak hesaplanır. Bu oranın artması kan-beyin bariyerinin bozulduğunu göstermesi açısından yararlı olabilir. (24) $IgG \text{ indeksi} = (BOS \text{ IgG/Serum IgG}) \times (\text{serum albümin/BOS albümin})$ olarak hesaplanır. Bu oranın artışı artan intratekal IgG üretimini düşündürür ve bu artış bulaşıcı enflamatuvar hastalıklar için tipiktir. (37,38)

Globulinlerin varlığı için Pandy ve Nonne-Apelt semikantitatif testleri kullanılır. Normal BOS'ta genellikle negatif sonuç alınır ancak bu testler tarama için yararlı olabilir. (33,39) Pandy testi, 1 mL Pandy reaktifine (%10 karboksilik asit) birkaç damla BOS eklenerek gerçekleştirilir. Bulanıklık, globulin varlığını gösterir ve yaklaşık 50 mg/dL veya 0,5 g/L hassasiyete sahiptir. (1) Ancak BOS'un protein konsantrasyonunun doğru bir şekilde değerlendirilmesi için Coomassie mavisi ve pirogallol kırmızısı gibi spesifik boyaların kullanıldığı özel analitik teknikler gereklidir. (5,24,40) Pirogallol kırmızısı ile 8-35 mg/dL'lik bir referans aralığı elde edilirken Coomassie mavisi ile 17-55 mg/dL'lik bir referans aralığı elde edilmiştir. (39)

IgM'nin varlığı BOS'ta normal bir bulgu değildir. Serumda ve/veya BOS'ta IgM varlığının, aktif enfeksiyöz hastalıkların tespiti için IgG veya toplam immünoglobülin seviyelerinden daha spesifik olduğu kabul edilir. Dolayısıyla BOS'ta IgM varlığının tanısal önemi vardır. (24,41)

IgA'nın MSS'nin hümmoral yanıtında merkezi bir rol oynadığı bildirilmiştir. SRMA'sı olan köpeklerde, granümatöz meningoensefalomyelit (GME) ve canine distemper virüs (CDV) kaynaklı oluşan ensefalit gibi diğer enflamatuvar hastalıklarda da BOS'ta IgA düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir. (14)

BOS'ta ölçümü yapılan diğer proteinler arasında C-reaktif protein (CRP), S-100 ve miyelin bazik protein yer alır. (42,43) SRMA'lı köpeklerin BOS örneklerindeki CRP düzeyleri, sağlıklı köpeklerden, IVDD ve/veya dejeneratif lumbosakral stenoz'u (DLSS), MSS tümörleri ve idiyopatik epilepsisi olan köpeklerden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. (44)

Kan-beyin bariyerini değiştiren, protein üretimini artıran veya BOS akışını engelleyen hastalıklarda hücre sayısı normal kalırken, TP konsantrasyonu belirgin şekilde artabilir; bu duruma albüminositolojik ayrışma denir. (45) Veteriner hekimlikte, idiyopatik poliradikülönörit, ekstradural kompresif lezyonlar, intramedüller lezyonlar (neoplazi ve enflamatuar veya enfeksiyöz hastalıklar), idiyopatik epilepsi, dejeneratif miyelopati, fibrokartilaginöz emboli, travma, vaskülit, trigeminal, fasiyal ve vestibüler nöropatiler gibi çeşitli hastalıkların albüminositolojik ayrışmaya neden olduğu bildirilmiştir. (24,46–50) Ancak Suñol ve ark. albüminositolojik ayrışma ile en sık ilişkili olan hastalıkların kranial nöropati, beyin neoplazisi, idiyopatik vestibüler periferik hastalık ve beyin damar hastalıkları olduğunu bildirmiştir. (45)

Birçok hastalık sürecinde, BOS hücre sayısı ve TP konsantrasyonu paralel olarak artma eğilimindedir. (4) Ancak BOS'ta çekirdekli hücre sayıları normal sınırlar içinde olduğunda bile hücre tipi veya morfolojisindeki anormallikler mevcut olabilir. Onun için BOS'un sitolojik incelemesinin yapılması önem arz eder. (51)

4. Beyin Omurilik Sıvısının Sitolojik Muayenesi

Sitoloji, lökosit alt tiplerini ve sayısını, anormal hücre morfolojisini ve etiyolojik ajanların varlığını, neoplastik hücreleri, kanama kanıtlarını vb. belirlemek için kullanılır. (33) Hücre morfolojisindeki hızlı bozulma ve lizis kaynaklı hücre sayısının azalması nedeniyle BOS örnekleri alındıktan 30 dakika içerisinde incelenmelidir. (52,53) Hücre sayısının düşük ve aşırı fragil olması nedeniyle BOS örneklerinden direkt yayma yapmak yararlı değildir. (11) Sitolojik değerlendirme için hücrelerin konsantrasyonu gereklidir. Bu amaçla sitosantrifüj, sedimentasyon ve membran filtrasyonu gibi teknikler kullanılmaktadır. (54) Sitosantrifüj cihazı lam üzerinde küçük dairesel bir alana 200-400/ μ L kadar hücreyi (sıvıdaki hücre sayısına bağlı olarak) yoğunlaştırmak için kullanılır. (51) Sedimentasyon yöntemine göre sitosantrifüj yöntemi ile hazırlanan preparatlarda hücre morfolojilerinin daha iyi olduğu, sedimentasyon yönteminde ise lökosit çeşitlerinin doğru belirlenme olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. (55,56) Her iki yöntemde de hazırlanan preparatlar yaygın

olarak havada kurutulur ve Romanowsky boyaları (May-Grünwald-Giemsa, Wright-Giemsa veya Diff-Quick) ile boyanır. Gram boyama, bakterilerin doğrulanması ve tanımlanması için yararlı olabilir. (6,57) Hindistan mürekkebi veya yeni metilen mavisi, mantar enfeksiyonlarının, özellikle, cryptococcosis'in tanımlanmasında yardımcı olabilir. (6) Luxol fast blue, BOS örneklerinde miyelin varlığını doğrulamak için kullanılabilir. (58)

Normal bir BOS örneği eritrosit içermez. Bir numunede eritrosit varlığı yaygın olarak iatrojenik olup örnek alımı sırasındaki kontaminasyon kaynaklıdır. Ancak subaraknoid kanama gibi patolojik durumlarda da BOS'ta eritrosit gözlenir. (1,6,24) Bir kedinin BOS'unda >30 hücre/ μL 'lik bir eritrosit sayısı, toplam ve diferansiyel hücre sayısı üzerinde etkili olabilir. (32) BOS örneğinde $>500/\mu\text{L}$ RBC olduğunda eozinofiller gözlenir, protein düzeylerinde küçük ila orta derecede artışlar yaşanır ve nötrofil sayısı güvenilir değildir. Kan kontaminasyonunun, düşük TNCC (<5 hücre/ μL) olan BOS numunelerinde lökosit diferansiyel sayısını değiştirme olasılığı daha yüksektir. (59)

Sağlıklı kedi ve köpeklerin BOS'unda bulunan hücrelerin çoğu küçük lenfositler ve monositoid hücreleri içeren mononükleer hücrelerdir. (1,5,6,24,32,33) Köpeklerde küçük lenfositler (6) ve monositik hücreler (12) baskınken kedilerde genellikle monositler baskındır. (5,6,32) Sağlıklı kedilerin BOS örneğindeki TNCC'nin %69-100'ünü monositoid hücreler, %0-27'sini lenfositler, %0-9'unu nötrofiller, %0-3'ünü makrofajlar ve %0 ila <1 'ini eozinofiller oluşturur. Bu hücreler ayrıca büyük mononükleer veya monositoid hücreler olarak da adlandırılabilir. (1) Orta ve büyük lenfositler genellikle normal BOS'un bir bileşeni değildir (6,24) ve özellikle subaraknoid boşlukta lokal antijenik bir stimülasyon varsa, TNCC artmasa bile varlıkları patolojik bir süreç olasılığını düşündürür. (60) Düzenli bir dolaşım ve değişim için BOS'taki lenfositlerin kana geri dönmesi de mümkündür. (61) Monositler köpeklerin normal BOS'unda lenfositlerden daha az yaygındır. Patolojik durumlarda monositler, çeşitli sindirim aşamalarındaki lipid damlacıkları, eritrositler, mikroorganizmalar ve hücre kalıntıları gibi değişen miktarlarda fagosite edilmiş materyal içeren makrofajlara dönüştürülür. (24) Kan kontaminasyonundan bağımsız olarak BOS'ta aktive edilmiş makrofajlar ve/veya reaktif lenfositlerin bulunması MSS anormalliklerinden şüphelenilmesini sağlar. (59)

BOS'ta nötrofillerin görülmesi anormal kabul edilmekle birlikte (51,62) muhtemelen örnekleme sırasındaki kan kontaminasyonu kaynaklı, düşük sayıda (TNCC'nin %10'una kadar) olgun ve dejenere olmayan nötrofillerin ara sıra normal BOS'ta görülebileceği bildirilmiştir. (24) Yapılan bir çalışmada 23

sağlıklı köpeğin RBC içermeyen BOS örneklerinden sitosantrifüj yöntemi ile hazırlanan preparatlarda ortalama $4,8 \pm 2,8$ nötrofil varlığı tespit edilmiştir. (41) Sağlıklı kedilerin düşük RBC içeren BOS örneklerinden 20 sedimentasyon yöntemi ve 22 sitosantrifüj yöntemine göre hazırlanan preparatların mikroskopik incelemesi sırasıyla 1 ± 2 ve 2 ± 6 nötrofil varlığını ortaya çıkarmıştır. (32) Eozinofiller sağlıklı köpeklerin ve kedilerin BOS'unda nadirdir, varlığı anormal kabul edilir ve kan kontaminasyonunun sonucu olabilir. (24,32)

Pleositozis, BOS'ta TNCC'de artışın olmasıdır. Hafif (<25 hücre/ μ L), orta (26-100 hücre/ μ L) veya belirgin (>100 hücre/ μ L) olarak değerlendirilebilen pleositozis, baskın olan hücre tiplerine göre nötrofilik, eozinofilik, mononükleer veya karışık pleositozis olarak tanımlanır. (63) Sitolojik değişiklikler her zaman hastanın öyküsü ve nörolojik bulguları ışığında yorumlanmalıdır. Bununla birlikte, anormal BOS bulguları, kan kontaminasyonu dışlanmışsa her zaman patolojik bir anormalliğin varlığını gösterir. (1) Çeşitli nörolojik bozukluklarda sitosantrifüjlenmiş BOS örneklerinde TNCC normal referans aralıklarda olsa bile kan kontaminasyonu neden değilse % 10-20 oranında nötrofil yüzdeleri ve >1 'lik eozinofil yüzdelerindeki artış anormal olarak kabul edilmelidir. (24,30,63) BOS'ta, hafif veya erken dönem MSS enflamasyonunda, meninksler veya ependimal hücrelerle temas etmeyen bir lezyonda, glukokortikoid ve antibiyotik kullanımı gibi durumlarda TNCC'de artış olmadan nötrofillerin yüzdesinde artış görülür. (30)

Nötrofilik pleositozis, travma, hemorajik hastalıklar, post-miyelografik reaksiyonlar, bakteri ve mantar enfeksiyonları, immün aracılı hastalıklar ve neoplaziyi içeren çok çeşitli akut inflamatuvar hastalıklarda tanımlanmıştır. (6,24,30) Köpeklerde SRMA, nekrotizan vaskülit, bakteriyel menenjit ve intrakraniyal meningiom vakaları nötrofilik pleositozis ile ilişkilendirilmiştir. (24,60,64,65) Kedilerin enfeksiyöz peritoniti ise yüksek TNCC ($>100 \mu\text{L}^{-1}$) ile birlikte belirgin nötrofilik pleositozis'in ($>50\%$ nötrofiller) görüldüğü başka bir yaygın nedendir ve sıklıkla artmış TP (genellikle >200 mg/dL) ile karakterizedir. (66)

Eozinofilik pleositozis'in (>20 eozinofili ile birlikte TNCC >3 hücre/ μ L) köpek ve kedilerin steroid duyarlı eozinofilik meningoensefalitis'inde, toxoplasmosis, neosporosis, cryptococcosis, çok nadiren CDV enfeksiyonu ve kuduzda şekillendiği bildirilmiştir. (6,24,67,68) Rottweiler köpeklerde ise idiyoPATİK eozinofilik meningoensefalit rapor edilmiştir. (69)

Mononükleer pleositozis, küçük ve olgun lenfositlerin ($>70\%$) yüzdesi veya konsantrasyonundaki artış ve/veya monositoid/makrofaj hücrelerinin

sayısındaki artışa denir. (51) GME, son derece değişken bir sitolojik bulgu spektrumuna sahip olabirse de mononükleer pleositozis'in sık görülen bir nedenidir. (24,70) Kedi (56) ve köpeklerde (71) MSS'nin viral enfeksiyonlarında lenfositik pleositozis ortaya çıkar. CDV enfeksiyonu hafif-orta şiddette lenfositik pleositozis ile karakterizedir. (72) Lenfositik pleositozis'in görüldüğü diğer hastalıklar arasında ehrlichiosis, toxoplasmosis, neosporosis ve bazı durumlarda antibiyotik tedavisini takiben bakteriyel menenjit sayılabilir. (26,34,55,73)

Karışık hücreli pleositozis, BOS'ta lenfositler, monositoid/makrofajlar, nötrofiller ve birkaç-nadir eozinofil ve plazma hücrelerinin bulunmasıdır. Köpeklerin GME'si, kronik SRMA, cryptococcosis, histoplasmosis, blastomycosis, aspergillosis, ehrlichiosis, toxoplasmosis, neosporosis ve protothecosis karışık hücreli pleositozis'in görüldüğü hastalıklardır. (24,74) Nekrotizan meningoensefaliti (NME) olan 14 Pug ırkı köpek üzerinde yapılan bir çalışmada BOS analizinde, değişen şiddette (ortalama 120 hücre/ μ L) bir pleositozis [lenfositik (%66), mononükleer (%17) veya karışık (%17)] varlığı bildirilmiştir. (75)

Özetle yüksek WBC sayısı veya anormal sitoloji bulguları içeren BOS örnekleri değerlendirilirken mononükleer pleositozis viral ve immün aracılı bozukluklara işaret ederken, nötrofilik pleositozis varlığında sağlam nötrofiller nekrotik MSS tümörlerine veya immün aracılı hastalıklara, dejeneratif/toksik nötrofiller bakteriyel menenjit, apse, nekrotik MSS tümörleri veya kötü numune işleme nedeniyle oluşan hücresel dejenerasyona işaret eder. Eozinofilik pleositozis, parazitik/fungal/protozoal hastalıklar veya eozinofilik meningoensefalomiyelit'te görülürken lenfoblastlar MSS lenfomasında görülür. (11)

Bazen sağlıklı hayvanların BOS örneklerinde ara sıra leptomeningeal astar hücreleri, koroid pleksus hücreleri ve ependimal hücreler gibi yüzey epitel hücreleri görülebilir. Ancak örnek alımında aspirasyon kullanılmışsa bu hücreler daha yaygın olarak gözlenebilmektedir. (1,6,76) Bu hücreler veteriner tıbbında nadiren görülür, ancak tanımlandığında onları neoplastik hücreler olarak yorumlamamak hayati önem taşır. (1) BOS örneklerinde sinir dokusu birkaç vakada nadiren tanımlanmıştır ve CMC'den örnek alımı sırasında omuriliğin kazara punksiyonu sonucu görülür. (77) BOS örneklerinde örnek alımı ile ilişkili kirleticiler arasında, spinal iğnenin yolundan kaynaklanan kıkırdak ve epitel hücreleri de görülebilir. (78)

5. Beyin Omurilik Sıvısının Bakteriyolojik, Virolojik ve Serolojik Analizleri

Merkezi sinir sistemi hastalığının nedeni olarak enfeksiyöz bir ajandan şüpheleniliyorsa BOS'un hem aerobik hem de anaerobik bakteri kültürleri yapılır. Bununla birlikte, BOS'tan başarılı bir şekilde organizma kültürü yapmak zordur. (1,11) Doğrulanmış bakteriyel menenjit vakalarında pozitif bakteri kültürü sonuçlarının son derece nadir olduğu bildirilmiştir. (26) Optimal sonuçlar için, büyük miktarda BOS toplanmalı ve kan kültürüne benzer şekilde işlem yürütülmelidir. (11) Negatif bir kültür sonucu, BOS'ta az sayıda organizmanın bulunması, uygun olmayan numune işleme veya kültür ortamı ve toplama tüplerinde bazı bakterilerin otolize hızlı eğilimli olmalarının sonucu olabilir. (79,80) Literatürde BOS kültürlerinde, *Staphylococcus*, *Pasteurella*, *Actinomyces*, *Nocardia*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* ve *Bacteroides* türleri gibi çeşitli anaerobik türlerin ürediği belgelenmiştir. (26) BOS'ta ayrıca *Cryptococcus spp.*'yi izole etmek için mantar kültürü yapılabilir. (81)

Toxoplasma gondii, (82) feline coronavirus, (83) feline immün yetmezlik virüsü (84), feline lösemi virüs (85) ve CDV (86) gibi etkenlerin BOS'ta tespit edilmesinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) da kullanılmıştır. Yakın bir zamanda canine distemperli köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada kan, mukozal sürüntü örnekleri ve BOS örneklerinde RT-PCR ve hızlı immünokromatografik antijen test kitleri kullanılarak CDV varlığı araştırılmış ve en fazla pozitiflik BOS örneklerinde saptanmıştır. Sonuçta asemptomatik köpeklerde veya uzun süredir sistemik belirtiler ile birlikte nörolojik bulguları olan köpeklerde, CDV tespitindeki en uygun örneğin BOS örnekleri olduğu bildirilmiştir. (87)

Hastalıkların tanısı amacıyla BOS örneklerinde otoantikörlerin varlığı da araştırılmıştır. Köpeklerin BOS örneklerinde anti-astroitik otoantikörlerin saptanması NME ve GME için oldukça spesifik kabul edilmiştir. (88) Kene kaynaklı ensefalitis'i olan köpeklerin BOS örneklerinde pozitif IgG antikör titresinin, akut dönemdeki köpeklerde hastalığın klinik teşhisini desteklediği bildirilmiştir. (89) Feline enfeksiyöz peritonitis'in tanısında BOS'ta 1:640 veya daha yüksek anti-feline coronavirus antikör titresinin hastalığın tanısında aday marker olabileceği gösterilmiştir. (90)

6. Beyin Omurilik Sıvısındaki Biyobelirteçler

Nöron spesifik enolaz (NSE) nöronların, oligodendrositlerin ve nöroendokrin hücrelerin sitoplazmasında, trombosit ve eritrositlerde bulunur.

Nöronal hasar ve dejenerasyonun tespitinde kullanılır ancak özgül değildir. GM1 gangliosidozis ve MSS enflamasyonu olan köpeklerin BOS'unda yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. (91,92)

Miyelin bazik protein (MBP) oligodendrositler tarafından üretilir. Beyaz madde hastalığının belirteci olarak kullanılır. Köpeklerde akut omurilik hasarında: BOS'ta >3 ng/mL MBP düzeyleri, %78 duyarlılık ve %76 özgüllük ile kötü prognoza işaret etmektedir. (93-95)

Glial fibriler asidik protein (GFAP) ve anti-GFAP otoantikörleri kan beyin bariyerinin değerlendirilmesinde kullanılır. Enflamasyon tanısında yardımcıdır, ancak ayırıcı tanıda özgüllüğü yoktur. (96) NME'li Pug ırkı köpeklerin serumunda $>0,1$ ng/mL düzeyleri %67 hassasiyet, %100 spesifiklik gösterirken (97) BOS'taki anti-GFAP otoantikörleri %91 hassasiyet ve %73 spesifiklik göstermiştir. (98)

Matris-metaloproteaz (MMP), hücre dışı matrisin bileşenlerini parçalayabilen büyük bir çinko bağımlı endoproteinazlardır. MMP-9 ve MMP-2 olmak üzere iki çeşidi vardır. İntervertebral disk hernisi olan belden aşağısı paralizli köpeklerde tespit edilebilir. Beyin tümörü olan köpeklerin BOS'unda saptanabilir ancak malignite ile ilişkili bulunmamıştır. (99,100)

Akut faz proteinlerinden, CRP ve haptoglobin intervertebral disk hernisi olan köpeklerin BOS örneklerinde özellikle ciddi yaralanması olanlarda önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. (101)

Glukoz; serum değerinin %60-80'i kadar BOS'ta glukoz bulunur. Bu yüzden serum ve BOS örneklerinin birlikte değerlendirilmesi gerekir. (102) BOS örneklerinde glukoz düzeylerinin düşmesi beyin hasarına bağlanır. (103) Meningitis, subaraknoid hemoraji, tümör hücrelerinin meningeal infiltrasyonunda ve sistemik hipoglisemide BOS'un glukoz değerleri düşer. (104,105) Diabetes mellitus'ta ise glukoz düzeyleri artar. (106,107)

Enzim aktiviteleri olarak alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin kinaz (CK) gibi enzimlerin normal şartlarda BOS'ta aktiviteleri düşüktür. (104) CDV enfeksiyonunda AST ve ALT, hidrosefalusta ise CK ve LDH enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir. (108) CK, MSS'nin yangı, anoksi ve travma gibi çeşitli bozukluklarında artış gösterir. Stabilitesi az olan bu enzimin artışı kötü prognoza işaretir. (104,107) Torakolumber miyelopatisi olan köpeklerde LSS'ye göre CMC'den alınan BOS örneklerinde CK düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. (109) Kreatinin kinaz beyin bandı (CK-BB) sinir dokusunda yüksek oranda bulunur ve beyin hasarı ve hastalıkların prognozu hakkında önemli bilgi verir. (104)

Laktat düzeyleri köpeklerde MSS hastalıklarının potansiyel bir biyobelirteci olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır. (110) Anaerobik şartlarda artış gösteren laktat'ın BOS düzeyleri kan ve plazmadan bağımsızdır. Meningitis, kafa travmaları ve subaraknoidal hemoraji gibi yangısal bozukluklarda kan-beyin bariyeri bozulduğu için BOS laktat düzeyleri artar. (111,112) Şiddetli kognitif eksikliklere sahip köpeklerde (113) ve intrakraniyal hastalığı olan köpeklerde (111) BOS laktat konsantrasyonlarında artışların olduğu kaydedilmiştir. SRMA ve etiyojisi bilinmeyen meningoensefalit olarak gruplara ayrılan 102 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada köpeklerin %47'sinde BOS laktat düzeyleri yüksek bulunmuştur. (110) Etiyojisi bilinmeyen meningoensefalit tanısı konulan köpekler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise kan laktat düzeyleri >4mmol/L ve BOS laktat düzeyleri >4mmol/L olan köpeklerin sağ kalım oranlarının düşük olduğu, bu düzeylerin ciddi nöronal hasara işaret ettiği ve prognostik belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. (114)

7. Sonuç

Sinirsel bulguları olan hayvanların değerlendirilmesinde BOS analiz bulguları genellikle spesifik olmasa da tanıya giden yolda önemli katkılar sağlamaktadır. Enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz enflamatuvar hastalıkların ayırt edilmesi zor olmakla birlikte, BOS analizi nadiren de olsa kesin tanı sağlamaktadır; ancak bu analiz, klinik bulgular, ileri görüntüleme teknikleri ve diğer yardımcı tekniklerin birleştirilmesi ile altta yatan hastalıkların teşhisine yardımcı olabilir.

Kaynaklar

1. Di Terlizzi R, Platt SR. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part II – Analysis. *Vet J.* 2009;180(1):15–32.
2. Bohn AA, Wills TB, West CL, Tucker RL, Bagley RS. Cerebrospinal fluid analysis and magnetic resonance imaging in the diagnosis of neurologic disease in dogs: a retrospective study. *Vet Clin Pathol.* 2006;35(3):315–20.
3. Thomson CE, Kornegay JN, Stevens JB. Analysis of cerebrospinal fluid from the cerebellomedullary and lumbar cisterns of dogs with focal neurologic disease: 145 cases (1985-1987). *J Am Vet Med Assoc.* 1990;196(11):1841–4.
4. Carmichael N. Nervous System. In: Davidson M, Else R, Lumsden J, editors. *Manual of Small Animal Clinical Pathology.* 1st ed. Cheltenham: British Small Animal Veterinary Association; 1998. p. 235–40.

5. Parent J, Rand J. Cerebrospinal fluid collection and analysis. In: August J, editor. *Consultation in Feline Internal Medicine 2*. 2nd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 1994. p. 385–92.

6. Cook JR, DeNicola DB. Cerebrospinal Fluid. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1988;18(3):475–99.

7. Küçükali İ, Kırbaş D. BOS'un Sitolojik Muayenesinin Kazanımları. *Düşünen Adam Derg*. 1996;9:56–9.

8. De Lahunta A, Glass E, Kent M. *Veterinary neuroanatomy and clinical neurology*. 4th ed. De Lahunta A, Glass E, Kent M, editors. St. Louis, MO: Elsevier; 2015. p. 78

9. Krieg A. Cerebrospinal fluid and other body fluids. In: Henry J, editor. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 1st ed. Philadelphia, PA: Saunders; 1979. p. 653–79.

10. Kjeldsberg C, Knight J. *Body Fluids: Laboratory Examination of Amniotic, Cerebrospinal, Seminal, Serous and Synovial Fluids*. 2nd ed. Kjeldsberg C, Knight J, editors. Chicago: American Society of Clinical Pathology Press; 1986. 107–109 p.

11. Rusbridge C. Collection and interpretation of cerebrospinal fluid in cats and dogs. *In Pract*. 1997;19(6):322–31.

12. Jamison EM, Lumsden JH. Cerebrospinal fluid analysis in the dog: methodology and interpretation. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)*. 1988;3(2):122–32.

13. Tipold A, Jaggy A. Steroid responsive meningitis-arteritis in dogs: Long-term study of 32 cases. *J Small Anim Pract*. 1994;35(6):311–6.

14. Tipold A. Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *J Vet Intern Med*. 1995;9(5):304–14.

15. Cizinauskas S, Jaggy A, Tipold A. Long-term treatment of dogs with steroid-responsive meningitis-arteritis: clinical, laboratory and therapeutic results. *J Small Anim Pract*. 2000;41(7):295–301.

16. Lowrie M, Penderis J, McLaughlin M, Eckersall PD, Anderson TJ. Steroid Responsive Meningitis-Arteritis: A Prospective Study of Potential Disease Markers, Prednisolone Treatment, and Long-Term Outcome in 20 Dogs (2006-2008). *J Vet Intern Med*. 2009;23(4):862–70.

17. Bartholomew KA, Stover KE, Olby NJ, Moore SA. Clinical characteristics of canine fibrocartilagenous embolic myelopathy (FCE): a systematic review of 393 cases (1973-2013). *Vet Rec*. 2016;179(25):650.

18. Mikszewski JS, Van Winkle TJ, Troxel MT. Fibrocartilaginous Embolic Myelopathy in Five Cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2006;42(3):226–33.

19. Taylor AR, Welsh CJ, Young C, Spoor E, Kerwin SC, Griffin JF, et al. Cerebrospinal Fluid Inflammatory Cytokines and Chemokines in Naturally Occurring Canine Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma.* 2014;31(18):1561–9.

20. Windsor RC, Vernau KM, Sturges BK, Kass PH, Vernau W. Lumbar Cerebrospinal Fluid in Dogs with Type I Intervertebral Disc Herniation. *J Vet Intern Med.* 2008;22(4):954–60.

21. Levine GJ, Cook JR, Kerwin SC, Mankin J, Griffin JF, Fosgate GT, et al. Relationships between cerebrospinal fluid characteristics, injury severity, and functional outcome in dogs with and without intervertebral disk herniation. *Vet Clin Pathol.* 2014;43(3):437–46.

22. Lane LV, Meinkoth JH, Bruncker J, Smith SK, Snider TA, Thomas J, et al. Disseminated protothecosis diagnosed by evaluation of CSF in a dog. *Vet Clin Pathol.* 2012;41(1):147–52.

23. Windsor RC, Sturges BK, Vernau KM, Vernau W. Cerebrospinal Fluid Eosinophilia in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2009;23(2):275–81.

24. Chrisman CL. Cerebrospinal Fluid Analysis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1992;22(4):781–810.

25. Fenner W. Diseases of the brain. In: Stephen J, Edward C, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 5th ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders; 2000. p. 552–602.

26. Radaelli ST, Platt SR. Bacterial meningoencephalomyelitis in dogs: a retrospective study of 23 cases (1990–1999). *J Vet Intern Med.* 2002;16(2):159.

27. Taylor AR, Young BD, Levine GJ, Eden K, Corapi W, Rossmeisl JH, et al. Clinical Features and Magnetic Resonance Imaging Findings in 7 Dogs with Central Nervous System Aspergillosis. *J Vet Intern Med.* 2015;29(6):1556–63.

28. Granger N, Smith PM, Jeffery ND. Clinical findings and treatment of non-infectious meningoencephalomyelitis in dogs: A systematic review of 457 published cases from 1962 to 2008. *Vet J.* 2010;184(3):290–7.

29. Becker M, Bauer N, Moritz A. Automated flow cytometric cell count and differentiation of canine cerebrospinal fluid cells using the ADVIA 2120. *Vet Clin Pathol.* 2008;37(3):344–52.

30. Meinkoth J, Crystal M. Cerebrospinal fluid analysis. In: Cowell R, Tyler R, editors. *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat.* 2nd ed. St Louis: Mosby; 1999. p. 125–40.

31. Bailey CS, Higgins RJ. Comparison of total white blood cell count and total protein content of lumbar and cisternal cerebrospinal fluid of healthy dogs. *Am J Vet Res.* 1985;46(5):1162–5.

32. Rand JS, Parent J, Jacobs R, Percy D. Reference intervals for feline cerebrospinal fluid: cell counts and cytologic features. *Am J Vet Res.* 1990;51(7):1044–8.

33. De Lorenzi D, Mandara M. The central nervous system. In: Raskin R, Meyer D, editors. *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide.* 3rd ed. St Louis: Elsevier; 2016. p. 369–407.

34. Fishman R. *Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Nervous System.* 2nd ed. Fishman R, editor. Philadelphia, PA: Saunders; 1992.

35. Hurtt AE, Smith MO. Effects of iatrogenic blood contamination on results of cerebrospinal fluid analysis in clinically normal dogs and dogs with neurologic disease. *J Am Vet Med Assoc.* 1997;211(7):866–7.

36. Jacobs RM, Cochrane SM, Lumsden JH, Norris AM. Relationship of cerebrospinal fluid protein concentration determined by dye-binding and urinary dipstick methodologies. *Can Vet J.* 1990;31(8):587–8.

37. Steinberg TA, Boettcher IC, Matiasek K, Hirschvogel K, Hartmann K, Kunz A, et al. Use of albumin quotient and IgG index to differentiate blood- vs brain-derived proteins in the cerebrospinal fluid of cats with feline infectious peritonitis. *Vet Clin Pathol.* 2008;37(2):207–16.

38. Tipold A, Pfister H, Vandeveld M. Determination of the IgG index for the detection of intrathecal immunoglobulin synthesis in dogs using an elisa. *Res Vet Sci.* 1993;54(1):40–4.

39. Riond B, Steffen F, Schmied O, Hofmann-Lehmann R, Lutz H. Total protein measurement in canine cerebrospinal fluid: agreement between a turbidimetric assay and 2 dye-binding methods and determination of reference intervals using an indirect a posteriori method. *Vet Clin Pathol.* 2014;43(1):78–88.

40. Marshall T, Williams KM. Protein determination in cerebrospinal fluid by protein dye-binding assay. *Br J Biomed Sci.* 2000;57(4):281–6.

41. Krakowka S, Fenner W, Miele JA. Quantitative determination of serum origin cerebrospinal fluid proteins in the dog. *Am J Vet Res.* 1981;42(11):1975–7.

42. Oji, T, Kamishina, H, Cheeseman, JA, Clemmons RM. Measurement of myelin basic protein in the cerebrospinal fluid of dogs with degenerative myelopathy. *Vet Clin Pathol.* 2007;36(3):281–4.

43. Stearman M, Southgate HJ. The Use of Cytokine and C-Reactive Protein Measurements in Cerebrospinal Fluid during Acute Infective Meningitis. *Ann Clin Biochem Int J Lab Med.* 1994;31(3):255–61.
44. Bathen-Noethen A, Carlson R, Menzel D, Mischke R, Tipold A. Concentrations of Acute-Phase Proteins in Dogs with Steroid Responsive Meningitis-Arteritis. *J Vet Intern Med.* 2008;22(5):1149–56.
45. Suñol A, Garcia-Pertierra S, Faller KME. Cerebrospinal fluid analysis in dogs: Main patterns and prevalence of albuminocytological dissociation. *Vet Rec.* 2021;188(5):e27.
46. Wamsley H. Clinical pathology. In: Platt S, Olby N, editors. *BSAVA manual of canine and feline neurology.* 4th ed. St. Louis, MO: Elsevier; 2013.
47. Coelho AM, Maddox TW, Sanchez-Masian D, Gonçalves R. Diagnostic value of cerebrospinal fluid analysis in a population of dogs with suspected idiopathic epilepsy. *Vet Rec.* 2019;185(17):539–539.
48. Schultz R, Tucker R, Gavin P, Bagley R, Saveraid T, Berry C. Magnetic resonance imaging of acquired trigeminal nerve disorders in six dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 2007;48(2):101–4.
49. Milodowski EJ, Amengual-Batle P, Beltran E, Gutierrez-Quintana R, De Decker S. Clinical findings and outcome of dogs with unilateral masticatory muscle atrophy. *J Vet Intern Med.* 2019;33(2):735–42.
50. Jeandel A, Thibaud JL, Blot S. Facial and vestibular neuropathy of unknown origin in 16 dogs. *J Small Anim Pract.* 2016;57(2):74–8.
51. Christopher MM, Perman V, Hardy RM. Reassessment of cytologic values in canine cerebrospinal fluid by use of cytocentrifugation. *J Am Vet Med Assoc.* 1988;192(12):1726–9.
52. Baker R, Lumsden J. Cerebrospinal fluid. In: Baker R, Lumsden J, editors. *Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat.* 1st ed. St Louis: Mosby Elsevier; 2000. p. 95–105.
53. Steele RW, Marmer DJ, O'Brien MD, Tyson ST, Steele CR. Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 1986;23(5):965–6.
54. Garma-Aviña A. An Inexpensive Sedimentation Chamber for the Preparation of Cytologic Specimens of Cerebrospinal Fluid. *J Vet Diagnostic Investig.* 2004;16(6):585–7.
55. Rand JS, Parent J, Percy D, Jacobs R. Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from twenty-seven cats with primary inflammatory disease of the central nervous system. *Can Vet J.* 1994;35(2):103–10.

56. Rand JS, Parent J, Percy D, Jacobs R. Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from thirty-four cats with primary noninflammatory disease of the central nervous system. *Can Vet J.* 1994;35(3):174–81.

57. Evans R. Ancillary diagnostic aids. In: Wheeler S, editor. *Manual of Small Animal Neurology.* 1st ed. Cheltenham, UK: British Small Animal Veterinary Association; 1988. p. 47–62.

58. Mesher CI, Blue JT, Guffroy MRG, De Lahunta A. Intracellular myelin in cerebrospinal fluid from a dog with myelomalacia. *Vet Clin Pathol.* 1996;25(4):124–6.

59. Krimer P, Haley A, Harvey S, Schatzberg S. Evaluation of cytospin precision in low cellularity canine cerebrospinal fluid. *J Vet Diagnostic Investig.* 2016;28(2):158–64.

60. Grevel V, Machus B. [Cells in the cerebrospinal fluid of dogs and cats. Part 2]. *Tierarztl Prax.* 1992;20(1):79–92.

61. Herndon R, Brumback R. *The Cerebrospinal Fluid.* 1st ed. Herndon R, Brumback R, editors. Boston,: Kluwer Academic Publishers; 1989. 248–255 p.

62. Dickinson PJ, Sturges BK, Kass PH, LeCouteur RA. Characteristics of cisternal cerebrospinal fluid associated with intracranial meningiomas in dogs: 56 cases (1985–2004). *J Am Vet Med Assoc.* 2006;228(4):564–7.

63. Freeman R, Raskin R. Cytology of the central nervous system. In: Raskin R, Meyer D, editors. *Atlas of Canine and Feline Cytology.* 1st ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2001. p. 325–65.

64. Meric S. Canine Meningitis: A Changing Emphasis. *J Vet Intern Med.* 1988;2(1):26–35.

65. Tunkel AR, Scheld WM. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev.* 1993;6(2):118–36.

66. Foley J, Lapointe J, Koblik P, Poland A, Pedersen N. Diagnostic Features of Clinical Neurologic Feline Infectious Peritonitis. *J Vet Intern Med.* 1998;12(6):415–23.

67. Smith-Maxie L, Parent J, Rand J, Wilcock B, Norris A. Cerebrospinal Fluid Analysis and Clinical Outcome of Eight Dogs With Eosinophilic Meningoencephalomyelitis. *J Vet Intern Med.* 1989;3(3):167–74.

68. Schultze A, Cribb A, Tvedten H. Eosinophilic meningoencephalitis in a cat. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1986;22(5):623–7.

69. Bennett P, Allan F, Guilford W, Julian A, Johnston C. Idiopathic eosinophilic meningoencephalitis in Rottweiler dogs: three cases (1992–1997). *Aust Vet J.* 1997;75(11):786–9.

70. Muñana KR, Luttgen PJ. Prognostic factors for dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis: 42 cases (1982-1996). *J Am Vet Med Assoc.* 1998;212(12):1902–6.
71. Vandavelde M, Spano JS. Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic disease. *Am J Vet Res.* 1977;38(11):1827–32.
72. Abate O, Bollo E, Lotti D, Bo S. Cytological, Immunocytochemical and Biochemical Cerebrospinal Fluid Investigations in Selected Central Nervous System Disorders of Dogs. *J Vet Med Ser B.* 1998;45(1–10):73–85.
73. Thomas WB. Inflammatory diseases of the central nervous system in dogs. *Clin Tech Small Anim Pract.* 1998;13(3):167–78.
74. Meadows R, MacWilliams P, Dzata G, Delauche A. Diagnosis of Histoplasmosis in a Dog by Cytologic Examination of CSF. *Vet Clin Pathol.* 1992;21(4):122–4.
75. Levine JM, Fosgate GT, Porter B, Schatzberg SJ, Greer K. Epidemiology of Necrotizing Meningoencephalitis in Pug Dogs. *J Vet Intern Med.* 2008;22(4):961–8.
76. Wessmann A, Volk H, Chandler K, Brodbelt D, Szladovits B. Significance of surface epithelial cells in canine cerebrospinal fluid and relationship to central nervous system disease. *Vet Clin Pathol.* 2010;39(3):358–64.
77. Fallin C, Raskin R, Harvey J. Cytologic Identification of Neural Tissue in the Cerebrospinal Fluid of Two Dogs. *Vet Clin Pathol.* 1996;25(4):127–9.
78. Christopher M. Bone Marrow Contamination of Canine Cerebrospinal Fluid. *Vet Clin Pathol.* 1992;21(3):95–8.
79. Peters M, Pohlenz J, Jatón K, Ninet B, Bille J. Studies of the Detection of *Listeria monocytogenes* by Culture and PCR in Cerebrospinal Fluid Samples from Ruminants with Listeric Encephalitis. *J Vet Med Ser B.* 1995;42(1–10):84–8.
80. Garges HP, Moody MA, Cotten CM, Smith PB, Tiffany KF, Lenfestey R, et al. Neonatal Meningitis: What Is the Correlation Among Cerebrospinal Fluid Cultures, Blood Cultures, and Cerebrospinal Fluid Parameters? *Pediatrics.* 2006;117(4):1094–100.
81. Fenner WR. Central nervous system infections. In: Greene CE, editor. *Infectious Diseases of the Dog and Cat.* 2nd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 1998. p. 647–57.

82. Stiles J, Prade R, Greene C. Detection of *Toxoplasma gondii* in feline and canine biological samples by use of the polymerase chain reaction. *Am J Vet Res.* 1996;57(3):264–7.

83. Doenges SJ, Weber K, Dorsch R, Fux R, Fischer A, Matiasek LA, et al. Detection of feline coronavirus in cerebrospinal fluid for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats with and without neurological signs. *J Feline Med Surg.* 2016;18(2):104–9.

84. Momtaz H, Isfahani MS, Adibi S, Momeni M, Souod N. Molecular diagnosis of Feline Immunodeficiency Virus (FIV) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood by RT-PCR and PCR methods among stray cats and relationships with clinical signs. *Rev Méd Vét.* 2012;163(1):25–30.

85. Carmichael KP, Bienzle D, McDonnell JJ. Feline Leukemia Virus-associated Myelopathy in Cats. *Vet Pathol.* 2002;39(5):536–45.

86. Sarchahi AA, Arbabi M, Mohebalian H. Detection of canine distemper virus in cerebrospinal fluid, whole blood and mucosal specimens of dogs with distemper using RT-PCR and immunochromatographic assays. *Vet Med Sci.* 2022;8(4):1390–9.

87. Sarchahi AA, Arbabi M, Mohebalian H. Detection of canine distemper virus in cerebrospinal fluid, whole blood and mucosal specimens of dogs with distemper using RT-PCR and immunochromatographic assays. *Vet Med Sci.* 2022;8(4):1390–9.

88. Matsuki N, Fujiwara K, Tamahara S, Uchida K, Matsunaga S, Nakayama H, et al. Prevalence of Autoantibody in Cerebrospinal Fluids from Dogs with Various CNS Diseases. *J Vet Med Sci.* 2004;66(3):295–7.

89. Alnefelt Y, Van Meervenne S, Varjonen K, Tidholm A, Rohdin C. Evaluation of antibodies in cerebrospinal fluid for the diagnosis of tick-borne encephalitis in dogs. *Acta Vet Scand.* 2021;63(1):32.

90. Soma T, Saito N, Kawaguchi M, Sasai K. Feline coronavirus antibody titer in cerebrospinal fluid from cats with neurological signs. *J Vet Med Sci.* 2018;80(1):59–62.

91. Satoh H, Yamato O, Asano T, Yonemura M, Yamauchi T, Hasegawa D, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers showing neurodegeneration in dogs with GM1 gangliosidosis: Possible use for assessment of a therapeutic regimen. *Brain Res.* 2007;1133:200–8.

92. Nakamura K, Miyasho T, Nomura S, Yokota H, Nakade T. Proteome Analysis of Cerebrospinal Fluid in Healthy Beagles and Canine Encephalitis. *J Vet Med Sci.* 2012;74(6):751–6.

93. Levine JM, Fosgate GT, Chen AV, Rushing R, Nghiem PP, Platt SR, et al. Magnetic Resonance Imaging in Dogs with Neurologic Impairment Due to Acute Thoracic and Lumbar Intervertebral Disk Herniation. *J Vet Intern Med.* 2009;23(6):1220–6.

94. Levine GJ, Levine JM, Witsberger TH, Kerwin SC, Russell KE, Suchodolski J, et al. Cerebrospinal Fluid Myelin Basic Protein as a Prognostic Biomarker in Dogs with Thoracolumbar Intervertebral Disk Herniation. *J Vet Intern Med.* 2010;24(4):890–6.

95. Ito D, Matsunaga S, Jeffery ND, Sasaki N, Nishimura R, Mochizuki M, et al. Prognostic value of magnetic resonance imaging in dogs with paraplegia caused by thoracolumbar intervertebral disk extrusion: 77 cases (2000–2003). *J Am Vet Med Assoc.* 2005;227(9):1454–60.

96. Whitney MS, Coates JR. Cerebrospinal Fluid Analysis in the Dog and Cat. In: Sharkey LC, Radin MJ, Seelig D, editors. *Veterinary Cytology.* 1st ed. Wiley; 2020. p. 638–54.

97. Miyake H, Inoue A, Tanaka M, Matsuki N. Serum Glial Fibrillary Acidic Protein as a Specific Marker for Necrotizing Meningoencephalitis in Pug Dogs. *J Vet Med Sci.* 2013;75(11):1543–5.

98. Toda Y, Matsuki N, Shibuya M, Fujioka I, Tamahara S, Ono K. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and anti-GFAP autoantibody in canine necrotising meningoencephalitis. *Vet Rec.* 2007;161(8):261–4.

99. Mariani CL, Boozer LB, Braxton AM, Platt SR, Vernau KM, McDonnell JJ, et al. Evaluation of matrix metalloproteinase-2 and -9 in the cerebrospinal fluid of dogs with intracranial tumors. *Am J Vet Res.* 2013;74(1):122–9.

100. Mandara MT, Pavone S, Mandrioli L, Bettini G, Falzone C, Baroni M. Matrix Metalloproteinase-2 and Matrix Metalloproteinase-9 Expression in Canine and Feline Meningioma. *Vet Pathol.* 2009;46(5):836–45.

101. Anderson KM, Welsh CJ, Young C, Levine GJ, Kerwin SC, Boudreau CE, et al. Acute Phase Proteins in Cerebrospinal Fluid from Dogs with Naturally-Occurring Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma.* 2015;32(21):1658–65.

102. Twijnstra A, Ongerboer de Visser BW, van Zanten AP, Hart AAM, Nooyen WJ. Serial lumbar and ventricular cerebrospinal fluid biochemical marker measurements in patients with leptomeningeal metastases from solid and hematological tumors. *J Neurooncol.* 1989;7(1):57–63.

103. Scott PR, Sargison ND, Penny CD, Pirie RS, Kelly JM. Cerebrospinal fluid and plasma glucose concentrations of ovine pregnancy toxæmia cases,

inappetant ewes and normal ewes during late gestation. *Br Vet J.* 1995;151(1):39–44.

104. Sezer M, Akyüz E, Uzlu E. Veteriner Hekimlikte Beyin Omurilik Sıvısının Muayenesi ve Klinik Önemi. In: Evreklioğlu C, Erten M, editors. Sağlık Bilimlerinde Güncel Araştırmalar. 1st ed. Ankara: Gece Kitaplığı; 2022. p. 484–500.

105. Donald PR, Malan C, van der Walt A. Simultaneous determination of cerebrospinal fluid glucose and blood glucose concentrations in the diagnosis of bacterial meningitis. *J Pediatr.* 1983;103(3):413–5.

106. Maraşlı Ş, Özcan A. Serebrospinal sıvının biyokimyasal analizi ve klinikte yararlanma olanakları. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 1996;2(1):13–21.

107. Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. 1st ed. Turgut K, editor. Konya; 1996.

108. Hinchcliff KW. Cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of neurological disease in large animals. *Br Vet J.* 1995;151(6):599–602.

109. Lampe R, Foss KD, Hague DW, Barger AM. Comparison of creatine kinase in cerebrospinal fluid collected from the cerebellomedullary and lumbar cisterna in 10 dogs with neurologic disease. *Vet Clin Pathol.* 2020;49(3):436–9.

110. Mariani CL, Nye CJ, Tokarz DA, Green L, Lau J, Zidan N, et al. Cerebrospinal fluid lactate in dogs with inflammatory central nervous system disorders. *J Vet Intern Med.* 2019;33(6):2701–8.

111. Caines D, Sinclair M, Wood D, Valverde A, Dyson D, Gaitero L, et al. Evaluation of cerebrospinal fluid lactate and plasma lactate concentrations in anesthetized dogs with and without intracranial disease. *Can J Vet Res.* 2013;77(4):297–302.

112. Benedicenti L, Gianotti G, Galban EM. Comparison between cerebrospinal fluid and serum lactate concentrations in neurologic dogs with and without structural intracranial disease. *Can J Vet Res.* 2018;82(2):97–101.

113. Pugliese M, Carrasco JL, Andrade C, Mas E, Mascort J, Mahy N. Severe cognitive impairment correlates with higher cerebrospinal fluid levels of lactate and pyruvate in a canine model of senile dementia. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2005;29(4):603–10.

114. Portero M, Martínez de Merlo E, Pérez C, Benito M, Daza MA, Fragio C. Cerebrospinal fluid and blood lactate concentrations as prognostic biomarkers in dogs with meningoencephalitis of unknown origin. *Vet J.* 2019;254:105395.

BÖLÜM II

SIĞIR TÜBERKÜLOZU**

Bovine Tuberculosis

Nevin TUZCU

(Dr. Öğr. Üyesi), Selçuk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

e-mail: nuzcu@hotmail.com

ORCID: 0000-0002-1017-718X

1. Giriş

Tüberküloz; *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTK) üyelerinin oluşturduğu, farklı patolojiler oluşturan, ciddi halk sağlığı sorunlarına yol açan gelişmişlik farkı gözetmeksizin dünyanın farklı ülkelerinde görülen kronik seyirli bir enfeksiyondur. Sığır tüberkülozu MTK üyesi olan *M.bovis*'in neden olduğu, çok sayıda hayvan türünü etkileyen, farklı doku ve organlarda ve özellikle de lenf düğümleri ve akciğerde granülatöz lezyonlara neden olan zoonoz bir hastalıktır.

2. Tarihçe

Yaklaşık üç yüz milyon yıllık tarihe sahip olan mikobakteriler, çevremizde yaygın ve oldukça fazla sayıda bulunur (1). Tespit edilen en eski tüberküloz olgusunun Almanya'da bulunan ve M.Ö. 8000 yılına ait olduğu düşünülen kemiklerde bulunan lezyonlarla teşhis edildiği bildirilmektedir (2). Milattan önce dörtüzlü yıllarda Hipokrat tüberkülozu erime anlamına gelen phtisis terimi ile tanımlamış, M.S. ikiyüzlü yıllarda Galen, tüberküloz için tedavi önerileri ortaya koymuştur (3).

Rönesans döneminde Andreas Vesalius (M.S. 1478) phtisisli hastalara yapılan otopsilerde kaviter lezyonların görüldüğünü kaydetmiştir. Francis

* Bölüm yazarın doktora tezi temel alınarak hazırlanmıştır.

Sylvius (1614-1672) tüberkülozdan ölen hastaların akciğerlerinde belirlediği sert nodülleri tüberkül olarak isimlendirmiştir (4). On yedinci ve on sekizinci yüzyıllarda ortaya çıkan yetersiz beslenme ve yoksul insanların sayısının artmasına paralel olarak tüberküloz vakalarının sayılarında da önemli artışlar görülmüştür (2).

Robert Koch 1882'de tüberküloz etkeninin *M. tuberculosis* olduğunu ispatlamış ve bu buluş ona 1905 yılında Nobel ödülü kazandırmıştır (5). R. Koch hastalardan elde ettiği tüberküloz etkenlerini yüksek ısı ile muamele ederek old tuberculin ismini verdiği aşı solüsyonunu hazırlamıştır. Florence Seibert ise 1930'lu yıllardan sonra old tüberkülünü saflaştırarak elde ettiği saflaştırılmış proteini (Purified Protein Derivative-PPD) tüberkülozun teşhisinde kullanmıştır (2).

Tüberküloza karşı koruyucu bir aşı hazırlamak için çalışan Calmette ve Guerin sığırdan izole ettikleri *M. bovis* etkenini sığır kaynaklı safra, patates ve gliserin katkılı besi yerlerinde 13 yıl süresince 230 kez pasajlayarak tüberküloza karşı bağışıklık sağlayan, düşük virülanslı bir mikobakteri suşu elde etmişlerdir. Bağışıklık oluşturan bu suş Bacille Calmette-Guerin (BCG) olarak adlandırılmıştır (6).

Tüberkülün Almanya ile benzer dönemlerde, 1890'lı yıllarda İstanbulda tüberküloz ile mücadelede kullanılmış ve aynı yıllarda pnömotoraks tedavisi uygulanmıştır (3).

2.1. Evrimi

M. bovis'in *M. tuberculosis*'e kıyasla daha geniş konakçı yelpazesine sahip olması ve *M. tuberculosis*'in sıklıkla insanlarda görülmesinden dolayı, yakın zaman kadar, *M. bovis*'in insana hayvandan adaptasyonu sonucu *M. tuberculosis*'e evrimleştiği fikri kabul edilmekteydi (7). Fakat genomdaki mutasyonel delesyonların ortaya konulması, *M. bovis*'in, *M. tuberculosis* atasal suşlarından ayrımını takiben *M. tuberculosis* atasal suşundan sırası ile, *M. africanum*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. caprae* ve *M. bovis* olacak şekilde delesyonel mutasyonlar sonucu evrimleşen en yeni üyesi olduğu kabul edilmiştir. Bu görüş, *M. bovis*'in genomunun *M. tuberculosis* genomundan ~60 kb daha kısa olması ve *M. bovis*'e spesifik bir gen kümesinin bulunmaması ile açıklanmaktadır (8,9).

M. bovis BCG'nin attenüasyonunda *M. bovis*'in klasik suşunun ESAT-6 (Early secretory antigenic target) ve CFP-10 (Culture filtrat protein) proteinlerini

kodlayan RD1 bölgesinin yanı sıra RD2 ve RD14 bölgelerinin delesyona uğradığı tespit edilmiştir. *M. tuberculosis*'e ait yaklaşık 61 genin *M. bovis* BCG'de kayıp olduğu tahmin edilmekte ve bu genomik bölgelerin virulans kaybindan sorumlu olabileceği kabul edilmektedir (9).

3. Etiyoloji

Actinomycetales takımı içerisinde yer alan *Mycobacteriaceae* ailesinde bulunan Mikobakteriler, aside dirençli ve yavaş üreyen bakterilerdir (10). Mikobakteriler 0,3-0,6x1-4 mm büyüklüğünde ve çomak şekilli, bazen de hafifçe kıvrık şekilde görülebilen bakterilerdir (11). Mikobakteriler hücre duvarlarındaki peptidoglikan yapısı ile Gram pozitif bakterilere benzerler ancak anilin boyaları ile boyanmazlar. Asidorezistan boyanma özelliğine sahiptirler (12). Mikobakterilerin bazıları sitoplazmalarında kromozomal DNA'dan farklı olarak plazmid ve epizom olarak isimlendirilen DNA parçacıkları içerir (11). Önemli mikobakteri türleri aşağıda açıklanmıştır.

M. tuberculosis: *M. tuberculosis*, insan tüberkülozunun en sık görülen etkenidir. Sıklıkla damlacık enfeksiyonu ile bulaşır. *M. tuberculosis* evrim sürecinde spesifik delesyon bölgesi TbD1 delesyonu ile atasal suştan ayrılmıştır. Katı besiyerlerinde 37 °C'de, 2-4 haftalık aerop koşullarda, pigmentsiz R tipi koloni oluşturur. Niasini kullanır, nitrata nitrite indirger. Tiyofen-2-karboksilik asit hidrazid (T₂H) üremesini baskılamaz. Pozitif pirazinamidaz aktivitesine sahiptir. Katalaz aktivitesi zayıf veya yoktur (13).

M. africanum: 1968 yılında Senegalli bir hastadan izole edilmiştir (14). Batı Afrika (*M. africanum* subtip I) ve Doğu Afrika (subtip II) şeklinde gruplandırılmıştır. *M. africanum* subtip II'in *M. tuberculosis*'in alt dalı olduğu kabul edilir. *M. africanum* subtip I iki lineage ayrılmıştır. Lineage 1'de RD711 bölgesinde, lineage 2'de RD7, RD8, RD9, RD10, RD701 ve RD702 bölgelerinde delesyon şekillenmiştir. Mikroaerofilik şartlarda iyi ürerler. Nitrata nitrite indirgemezler. T₂H varlığında üremezler. Pozitif pirazinamidaz aktiviteleri vardır (11,14).

M. microti: **Çoğunlukla** ufak kemirgenlerden izole edilmesine rağmen kediler, domuzlar ve lamalardan da izole edilmiştir. İnsanlarda da *M. microti* enfeksiyonu rapor edilmiştir. Sıvı kültür yöntemlerinde hızlı ve bol miktarda ürer. *M. microti* suşları türe spesifik IS6110 bant profili ve spoligotyping paterni gösterir. Lama ve sıçan tipi olmak üzere iki adet spoligotyping profiline sahiptir (11).

M. canettii: *M. canettii* genellikle düzgün, yuvarlak ve parlak koloniler yapar. *M. canettii* suşları, koloni morfolojisi, IS1081 kopya sayısı, hücre duvarının lipid içeriği, housekeeping gen polimorfizmi gibi özellikleri açısından farklılıklar gösterir (14).

M. pinnipedii: *M. pinnipedii* Avustralya deniz aslanı ve foklarda belirlenen tüberküloz olgularından ilk olarak izole edilmiştir. Foklardan elde edilen suşlar sodyum piruvatlı besi yerlerinde üremiştir Pirazinamide duyarlı olmaları ve ARB boyamalarda gevşek kord formasyonu oluşturmaları ile *M. bovis*'ten ayrılırlar (14).

M. caprae: İlk kez keçilerden izole edilen *M. caprae*, pirazinamide duyarlılığından ayrı olarak *pncA*, *oxyR*, *katG* ve *gyrA* gen polimorfizm kombinasyonlarına sahip olmasından dolayı MTK'nin sıradışı bir üyesi olarak bilinir (14).

M. bovis: *M. bovis*'in konakçı yelpazesi oldukça geniştir. *M. tuberculosis* enfeksiyonundan klinik ayırımı zordur. İnsanlar seyrek te olsa primer konak olabileceği için *M. tuberculosis* ile tür düzeyinde ayırt edilmelidir. *M. bovis* kaynaklı tüberküloz vakaları sosyo-ekonomik seviyesi düşük, tüberküloz kontrol programları bulunmayan ve pastörizasyonun uygulanmadığı ülkelerde sıklıkla görülür (15). Aşı suşu olarak kullanılan *M. bovis* BCG'nin atası *M. bovis*'tir (16).

M. bovis'le *M. tuberculosis* H37Rv suşu arasında 2.437 SNP (Single Nucleotide Polymorphism), *M. bovis*'le *M. tuberculosis* CDC1551 suşu karşılaştırıldığında ise 2.423 adet SNP vardır. *M. bovis*'in *pncA* geninde ortaya çıkan nokta mutasyon sonucunda prazinamid direnci gelişir ve niasin birikimi engellenir (9). *M. tuberculosis* tarafından üretilen ESAT-6 proteini kuvvetli T hücre mutajeni proteinler ailesine dahil bir antijendir. *M. tuberculosis*'te ESAT-6 proteinini kodlayan *Rv2346c*, *Rv2347c*, *Rv3619c*, *Rv3620c*, *Rv3890c*(*Mb3919c*) ve *Rv3905c* (*Mb3935c*) geni *M. bovis*'te kaybolmuş ya da değişmiştir (17). *M. tuberculosis* karbon kaynağı olarak gliserölü kullanırken, *M. bovis* pruvata ihtiyaç duyar (9).

M. bovis besi yerlerinde *M. tuberculosis*'e kıyasla geç ürer. Yumurta içeren besi yerlerinde yuvarlak şekilli, küçük, düz veya hafif kabarık görülen ve beyazımtırak renkteki kolonileri 4. haftadan sonra şekillenmeye başlar. *M. bovis* 1-10 µm uzunlukta ve 0,2-0,6 µm kalınlığında, sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz olup, niasin ve nitrat redüksiyon testleri negatiftir. TCH'ya duyarlıdırlar. Katalaz pozitifdir (18). Pirazinamide direçli *M. bovis* subsp. *bovis* ve pirazinamide duyarlı *M. bovis* subsp. *caprea* olmak üzere 2 alt türü vardır (19). *M. tuberculosis*'den

farklı olarak besi yerlerinde gliserin bulunması üremesini olumsuz etkilediği için *M. bovis* izolasyonunda gliserinsiz ve sodyum piruvatla zenginleştirilmiş besiyerleri kullanılır (18).

Hücre duvarında yüksek oranda bulunan lipidden dolayı dezenfektanlara karşı dirençlidir. Su ve toprakta 4-5 ay canlı kalabilir. 37°C de ve uygun besiyerinde 12 yıl canlı kalabildikleri bilinmektedir. Güneş ışığına maruz kalmadan sokak tozlarında 10 gün canlılıklarını korurlar. Soğuga karşı dirençlidirler (1).

Çalışmalar, 20 °C sıcaklıkta 30 dakikadan daha uzun süre uygulanan %2'lik glutraldehitin, oda sıcaklığında uygulanan serbest iyodun ise %0,0625 ve daha yüksek konsantrasyonlarının 5 dakikalık sürede *M. tuberculosis* ve *M. bovis* BCG üzerine etkili olduğunu ortaya koymuştur. %5'lik sodyum hipoklorit ve %3-8 formaldehitin 10-30 dakikalık uygulamalarının tüberkülosidal etkili olduğu bilinmektedir. *M. bovis* pastörizasyona, ultraviole ışınlarına ve basınçlı buharla sterilizasyona duyarlıdır (1).

4. Epidemiyoloji

İngiltere'de 1942 yılında sığırların %40'ının tüberküloz olduğu ve bu oranın yapılan eradikasyon çalışmaları ile %0.6'ya kadar düşürüldüğü ancak 1984 yılından itibaren sığır tüberkülozu insidansında artış görüldüğü bildirilmiştir. Günümüzde İngiltere'de sığır tüberkülozundan kaynaklanan ekonomik kayıpların 1 milyar dolara ulaşacağı düşünülmektedir (20,21).

Almanya'da sığır tüberkülozu eradikasyon çalışmaları 1950'li yıllarından itibaren yapılmaktadır. Tüberkülozun insidansı 1952 yılında olarak %40'a, 1961 yılında %1.7'ye 1971 yılında %0.32'ye, 1981 yılında %0.044'e ve 1988 yılında ise %0.025'e düşürülmüştür (21).

Sığır tüberkülozunun prevalansının belirlenmesine yönelik İtalya'da 1942 yılında yapılan bir çalışmada 544 süt örneğinde %6.8 oranında etken belirlenmiştir. İtalya'da 1979 yılında uygulanmaya konulan eradikasyon programı ile hastalığın insidansı %3.9'dan 1991 yılında %1.89'a kadar düşmüştür (21).

Amerika'da uygulanan eradikasyon programıyla 1969 yılında hastalığın insidansı %0.03'e düşürülmüştür. Bu oran 1993'de %0.6 olarak belirlenmiş, günümüzde ise insidansın %0.02 olduğu açıklanmıştır (21).

Sığır tüberkülozu, dünya için önemli bir hastalık olduğu kadar, ülkemiz için de önemle üzerinde durulması gereken zoonozlardan birisidir. Bu nedenle zaman zaman ülkemizde de eradikasyon programları hazırlanarak uygulanmıştır.

Ülkemizde yapılan araştırmalarda sığır tüberkülozunun prevalansı %10 olarak hesaplanmıştır (22,23).

M. bovis'e bağlı insan tüberkülozu olguları 1960'lı yıllardan sonra birçok ülkede bildirilmiştir (24,25,26).

İngiltere'de yapılan bir araştırmada insan tüberküloz olgularının içerisinde sığır tüberkülozu oranının %2,8 olduğu rapor edilmiş ve *M. bovis*'in *M. tuberculosis*'e göre lenfadenit oluşturma eğiliminin fazla olduğu ve yaşlılarda daha fazla görüldüğü, muhtemelen de vakaların çoğunun reaktivasyonla geliştiği belirtilmiştir (27).

Almanya'da 1982 yılında yapılan bir başka çalışma ile tüberkülozlu insanlarda sığır tüberkülozu oranının %4,6 olduğu rapor edilmiştir (28).

Ülkemizde Ağaçayak ve ark. (2007) tüberküloz şüpheli insanların balgam örneklerinden izole ettikleri 60 Mikobakteri izolatının PZR ve restriction fragment length polymorphism (RFLP) ile analizi sonrası 44 izolatın (%86.3) MTK üyesi, bunların da 34'ünün (%77) *M. tuberculosis*, sekizinin (%18) *M. bovis*, birinin (%2) *M. microti* ve diğer birinin (%2) *M. africanum* olduğunu bildirmişlerdir (29).

5. İmmünite

Doğal İmmünite: Tüberküloza karşı doğal immünitede; konağın üst solunum yolunun fiziksel engeli, fagositoz, fagositik hücrelerin reaktif nitrojen ve oksijen ürünleri, yangı hücreleri ve salgılanan sitokinler, alveoler makrofajların kimyasal yapısını değiştirmesi, apoptozis, genetik faktörler, solunum sisteminin doğal flora yapısı rol almaktadır (30).

Üst solunum yolunda bulunan silialı epiteller etken içeren moleküllerinin alt solunum yollarına taşınmasını engellerler (30). Üst solunum sistemi, mikroorganizmaları ve yabancı partikülleri havanın oluşturduğu türbülans sayesinde mukozal duvarlara doğru sürükler ve mukusa yapışmalarına neden olur. Solunum sistemi mukozasındaki goblet hücrelerinden salgılanan IgA türü antikorlar koruyucu immunitenin önemli bir kısmını oluşturur (30).

Üst solunum yolundaki engelleri geçerek alveollere gelebilen mikobakteriler alveoler makrofajlar ve monositler tarafından fagosite edilirler (31). Hücre stoplazmasında fagolizozomal füzyon şekillenir ve etkenler burada pH'nın düşmesi, proteolitik enzimler, fagositik hücreler tarafından üretilen reaktif oksijen (H_2O_2) ve nitrojen ara ürünleri ile ortadan kaldırılmaya çalışılır. Mikobakterilerin fagositozunda hücre duvarındaki lipid yapıların önemli etkisi

vardır. ManLAM (arabınan terminaline mannoz bağlı), AraLAM (arabınan terminalinde mannoz olmayan) ve fosfo-myo-inositol bağlı LAM olmak üzere üç tip LAM vardır. ManLAM virulansı yüksek türlerde bulunur ve makrofaj cevabı engelleyerek mikobakterilerin hücre içinde canlı kalmasını sağlar (31).

Mikobakterilerin, virulans faktörlerine bağlı olarak fagolizozom oluşturulamazsa etkenler sindirilmeyen ve hücre içinde çoğalırlar. Fagolizozom oluşması durumunda etkenler, basil duvarında bulunan büyük molekül ağırlıklı lipitler sayesinde lizozomal hidrolitik enzimlere direnç gelişmesi, reaktif oksijen ara ürünlerinin (H_2O_2) sentezinin önlenmesiyle fagolizozomun öldürücü etkisinden korunurlar. Fagositozdan kurtulan etkenler makrofajlar içinde çoğalarak fagositleri parçalar veya latent olarak vücutta kalırlar. Parçalanan fagositlerden etrafa yayılan basiller çoğalır ve komşu lenf bezlerine ve diğer organlara taşınarak yeni enfeksiyon odakları oluştururlar (31). Mikobakteriler, *isocitrate lyase* salgılayarak yağ asitlerini alternatif besin kaynağı olarak kullanırlar ve yıllarca alveoler makrofajlar içerisinde persiste olarak kalırlar (32). Mikobakteriler tarafından uyarılan makrofajlardan proinflamatuvar ve inflamatuvar sitokinler salgılanır (33).

Kazanılmış İmmünite: Mikobakterilerin çoğaldığı alanda makrofajlar ve dentritik hücreler, T lenfositler ve fagositlerin göçünü, granülomların oluşumunu sağlayan sitokin ve kemokinler üreterek kazanılmış immün cevabı tetiklerler (34). Mikobakteriler ile enfekte makrofajlardan, TNF- α ve IL-12 gibi immün koruyucu ve NK hücreleri aktive edici IL-2 ve TNF- α sitokinleri salgınır. TNF- α ile IL-12, T0 ve CD4⁺Th2 lenfositlerin CD8⁺Tc fenotipe dönüşümünü başlatırlar. Th1 lenfositleri IL-2, TNF- α ve IFN- γ salgılar. IFN- γ ; makrofaj aktivatörü olup fagositoz hızını ve makrofajlardan IL-12 ile TNF- α sentezini artırmaktadır. IL-2 ve TNF- α , NK ve CD8⁺Tc lenfositleri aktive eder. Aktive olan makrofajlar mikobakterileri parçalarken, NK ve CD8⁺Tc lenfositleri stoplazmasında etken bulunduran makrofajları öldürerek etken sayısını azaltırlar (34).

Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu: Konağın antijenlere karşı oluşturduğu yangısal bir reaksiyon olup, yavaş meydana gelmekte ve uzun süre devam etmektedir. Lokal makrofajlar patojene ait antijenik peptitleri MHC-II molekülleri ile Th1 lenfositlere sunarlar. Antijene özgül olarak aktive olan CD4⁺Th1 lenfositleri tarafından, ölü veya canlı aynı antijenle tekrar karşılaştığı zaman, INF- γ , TNF- α , GM-CS-F (*granulocyte macrophage-colony stimulating factor*) gibi yangı mediatörleri salgınır. GM-CS-F makrofajların kemotaksisini, INF- γ makrofajların aktive olmasını, TNF- α enfekte makrofajların ölümünü sağlamaktadır. Bu mediatörlerin salgınmasıyla gecikmiş tip aşırı duyarlılık

reaksiyonu meydana gelir ve olay ilerledikçe granümatöz tip reaksiyon oluşur. Pasif olarak aktarılamayan bir reaksiyon olan gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu, hücrel immün yanıtı takip etmektedir (35).

PPD (pürifiye protein derivatı) reaksiyonu, tipik bir gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Lenfositlerin aktivasyonu ile salınan lenfokin ve kemotaktik faktörlerin etkisiyle yangı hücrelerin toplanmasına neden olur ve bunun sonucunda doku hasarı ve nekroz oluşur (30). Gecikmiş tip aşırı duyarlılıktan, 10 kDa'luk küçük proteinlerin karışımı olan tüberkülin, CD1 molekülleri üzerinden T lenfositlerine sunulan lipoarabinomannan ve glikolipit (kord faktörü) gibi antijenler sorumludur. Tüberkülozda gözlenen kazeifikasyon, likeifikasyon ve kavitasyon gibi, akciğer hasarı konağın gecikmiş tip aşırı duyarlılık cevabı ile ortaya çıkmaktadır. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu ile oluşturulan yerel nekroz, hücrel immünitenin yerel makrofaj aktivasyonu sağlaması için konağa zaman kazandırır. Yerel makrofajlar aktive olmuş ise fagosite ettikleri basilleri inaktive ederler, aktive edilmemiş ise içlerinde basiller tekrar çoğalmaya başlar ve çoğalmayı önlemek için gecikmiş tip aşırı duyarlılık cevap tekrarlanarak kazeöz nekroz alanları genişler (30).

Granülom Oluşumu: Enfeksiyonun başlamasından yaklaşık 2-6 hafta sonra hücrel immünite ve lezyonlu bölgede aktif alveoller makrofajlar ile lenfositlerin (CD4⁺Th ve CD8⁺Tc) bir araya gelmesiyle granülom oluşur. Bu oluşumda, etkene ait lipit yapının uyarımı ile enfekte makrofajlar tarafından salınan kemokinlerin (IL-8, MCP-1) etkisi vardır (30). Granülom oluşumu ile mikobakterilerin çoğalması ve enfeksiyonun durdurulmaya çalışılarak yayılması sınırlandırılır. Etkenin virülansına ve miktarına bağlı olarak granülom içinde uzun süre hayatta kalabilen basiller, hücrel immün cevabın baskılandığı durumda tekrar aktive olabilmektedir (30).

6. Patogenez

Hasta olan hayvanlar öksürük, süt, dışkı, idrar, vaginal sekresyonlar ve spermaları ile tüberküloz etkenlerini saçarlar. Sığırlarda tüberküloz basilini bulandıran damlacıkların solunum yolu ile alınması bulaşmada oldukça önemli rol oynar (36). Enfeksiyonunun oluşabilmesi için etkeni içeren küçük damlacıkların (~1-2 mm) alveoler yüzeylere yerleşmesi gerekmektedir. Sindirim yolu ile bulaşma buzağılarda oldukça önemlidir. Genital ve kongenital yolla da bulaşma oluşabilir. Sığırlardan kedi ve köpeklerle ektoparazitler yoluyla hastalığın bulaştığı bildirilmiştir (36).

M. bovis'in insanlara bulaşması, genellikle enfekte süt ve süt ürünlerinin, hasta hayvan etlerinin, idrar ve gaita ile kontamine su ve gıdaların tüketilmesi sonucu sindirim yolu ile olmaktadır (36).

Alınan etken miktarı, konakçının bağışıklık durumu ve etkenin virülansı canlıda tüberkülozun başlamasında önemli nedenlerdendir (37).

Üst solunum yollarında bulunan bariyerleri geçebilen ve alveoller boşluğa gelen etkenler burada hücrel dejenerasyon veya nekroz oluştururlar (*primer efekt*). Bakteriler burada ya makrofajlarca fagosite edilirler ya da bağımsız olarak bu organlarda bulunan lenf yumrularında *primer complex* olarak adlandırılan tüberkellerin oluşmasına neden olurlar. Primer kompleks sıklıkla canlının ilk enfeksiyonunda oluşur. Canlının yaşına ve immün sistemine bağlı olarak bu lezyonlar kendiliğinden iyileşebildiği veya lokalize kalabildiği gibi, bağışıklık durumun zayıfladığı durumlarda basiller buldukları bu odaklarda tekrar çoğalarak kan yoluyla diğer organ ve dokulara yayılabilmekte ve bu organlarda çok sayıda küçük tüberkellerin oluşması ile karakterize *milier tuberculosis* tablosunun oluşmasına sebep olmaktadır (38).

7. Teşhis

İnsanlarda tüberküloz tanısında balgam, bronkoalveoler lavaj ve ince iğne aspirasyon sıvısı, hayvanlarda ise genellikle post mortem lezyonlu organ parçaları kullanılmaktadır. Vida kapaklı özel taşıma kapları içerisine alınan örnekler oda ısısında 2 saat sürede laboratuvara ulaştırılmalıdır (39,40).

OIE'ye göre sığır tüberkülozunun antemortem teşhisinde tüberkülin deri testi, alternatif olarak gamma interferon testi, posmortem teşhisinde; ARB, floresans boyama, immunperoksidaz gibi boyalı preparatlarla bakteriyoskopik ve histopatolojik muayene, kültür ve moleküler yöntemler önerilmektedir (41).

Tüberkülin Deri Testi (PPD): Tüberküloz enfeksiyonu sonucu meydana gelen geç ve hücrel tipte oluşan bağışıklığı tespit etmek için kullanılan bir testtir. Enfeksiyondan sonra ilk duyarlılaşma 6-9 hafta içinde bölgesel lenf düğümlerinde gelişerek kan dolaşımına giren duyarlı T-lenfositleri ile şekillenir. Bu lenfositler, deri içine tüberkülin enjeksiyonu ile tekrar uyarılarak, aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşur (40). PPD'nin deri içerisine enjeksiyonundan sonra antijen deride bulunan dendritik hücreler, langerhans hücreleri tarafından alınarak bölgesel lenf düğümlerine taşınırlar. Lenf düğümleri ve dolaşımda bulunan duyarlı Th1 hücreleri antijeni tanıyarak aktive olurlar ve enjeksiyon bölgesinde toplanırlar. Bölgede toplanan T-lenfositleri IFN- γ , IL-2, IL-8,

serotonin, lenfotoksin gibi maddeler salgırlar. Bu sitokinler bölgeye bazofil ve makrofaj göçünü artırır. Bu hücrelerden salınan sitokinler de bölgeye daha fazla lenfosit göçüne sebep olur. Oluşan bu reaksiyonlar ile hücresel düzeyde yangı meydana gelir. Oluşan aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucunda enjeksiyon bölgesinde endurasyon olarak tanımlanan ödem, kızarıklık, ısı artışı ve ağrı meydana gelmektedir (40).

Tüberkülin deri testinde antijen olarak old tüberkülin, HSCM (ısı ile konsantre edilmiş sentetik besiyeri) tüberkülin ve PPD tüberkülin mevcuttur. Ancak günümüzde PPD tüberkülin kullanılmaktadır (40).

Tüberküloz teşhisinde kullanılan PPD, sığırlarda *M. bovis* AN5 suşundan, insanlarda ise *M. tuberculosis*'den hazırlanmaktadır (41).

Gamma İnterferon (IFN- γ) Testi: Bu test 1980 yılında Avusturalya'da geliştirilen ve sığır tüberkülozunun teşhisinde kullanılan, hücresel bağışıklığın ölçüldüğü in vitro, kan temelli bir testtir (42). Testte, Bovine (B) ve Avian (A) PPD ya da diğer mikobakteriyel antijenler ile aktive edilen tam kan veya mononükleer hücre kültüründe, 16-24 saat içerisinde duyarlı lenfositlerden salınan interferon gamma seviyesi, monoklonal anti-bovine IFN- γ antikorlar kullanılarak sandwich ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) ile ölçülmektedir. Sığırlarda, *M. bovis* ile enfeksiyondan 1-4 hafta sonra, tam kan hücre kültüründeki T-lenfositleri PPD B ile uyarıldığında yüksek düzeyde IFN- γ salınımı gerçekleşmektedir (43).

Bakteriyoskopi ve Kültür: ARB yöntemi tüberkülozun teşhisinde kolay uygulanabilir ve ucuz olması nedeniyle DSÖ'nün önerdiği ve yaygın olarak kullanılan referans bir metottur. Ancak mikroskopik teşhiste örnekte bulunan bakteri sayısının az olmasına bağlı olarak yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Mikobakterilerin, ARB ile boyanma prensibi, hücre duvarlarında bulunan mikolik asitin karbol fuksini tutması ve asit alkol uygulamasından sonra boyayı bırakmaması esasına dayanmaktadır (44).

Tüberkülozun teşhisinde altın standart kültür yöntemidir (21). Ancak kültürün uzun süre alması, Biyogüvenlik Seviyesi 3 (BSL 3) laboratuvar gerektirmesi bu yönteminin önemli dezavantajlarından (21).

Etkenin ilk izolasyonunda genellikle Lowenstein Jensen, Coletsos base, Stonebrinks gibi yumurta bazlı ya da Middlebrook 7H10, Middlebrook 7H11 gibi besiyerleri kullanılmaktadır. *M. bovis*, gliserin içermeyen Lowenstein Jensen besiyerinde 3-6 haftada üreme göstermektedir. Ayrıca besi yerine sodyum piruvat (4gr/l) ilave edilmesi üremeyi olumlu yönde etkilemektedir (45). *M. bovis* katı besiyerlerinde, beyaz renkte, kuru, kabarık, kenarları düzensiz,

granüllü, R tipi, *M. tuberculosis*, 4-5 hafta sürede sarı, turuncu renkte kuru, kabarık, üzeri grintili, R tipi, *M. avium* 2-3 hafta sürede, pigmentsiz, düz, S tipi koloniler oluştururlar (45).

Lenfosit Proliferasyon Testi: Duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir testtir. Bu testte PPD Bovine ve PPD Avian antijenlerine karşı lenfositlerin vermiş olduğu invitro hücresel bağışıklık reaksiyonu karşılaştırılmaktadır. Test tam kanda ya da purifiye lenfositlerle uygulanan bu test özel laboratuvar ekipmanlarına ihtiyaç duyulması, uzun inkübasyon gerektirmesi, radyoaktif nükleotidlerin kullanılması ve laboratuvarlar arası standardizasyonun sağlanamaması sebebi ile bilimsel çalışmalar dışında rutinde kullanılmamaktadır (41).

Humoral Bağışıklığın Ölçülmesi: Tüberkülozun serolojik teşhisinde aglutinasyon testi, komplement fikzasyon (CFT), pasif hemaglutinasyon, jel presipitasyon, immunelektroforez, immunfloresan testi gibi yöntemler kullanılmıştır. Fakat kullanılan serolojik testlerin hastalık teşhisinde yetersiz olduğu görülmüştür (45,46).

Mikobakteriler ile enfekte canlılarda oluşan antikor seviyesi, bakteri sayısının ve patolojik değişikliklerin arttığı enfeksiyonun geç döneminde yükselmektedir (46). Bu nedenle tüberküloz enfeksiyonunda hücresel bağışıklığı belirleyen testler, antikor bazlı testlere göre hastalığı daha erken dönemde ve yüksek duyarlılık ve özgüllükte belirleyebilmektedir (46).

Moleküler Metotlar: Moleküler tiplendirme yöntemlerinin fenotipik yöntemlerle beraber kullanılması; suşların kesin olarak birbirinden ayrılmasıyla birlikte, mikobakterilerin toplumda bulaş ve yayılma nedenlerinin ayrıntılı olarak bilinmesi, odak noktaların belirlenmesi, laboratuvarlardaki kros-kontaminasyonlar ile reaktivasyon ve reinfeksiyonun belirlenmesi gibi epidemiyolojik anlamda kıymetli verilerin belirlenmesini sağlamıştır (47).

MTK'nın tanımlanmasında 16S rRNA gen bölgesi diziliminin belirlenmesine yönelik gen problemlerinin kullanımıyla moleküler yöntemler kullanılmaya başlamıştır. Fakat bu gen bölgesiyle tür düzeyinde tanımlama yapılamadığı için, 16S-23S rRNA bölge amplifikasyonu ve reverse hibridizasyon metodunu baz alan INNO-Lipa gibi metotlar ile tür düzeyinde identifikasyon yapılabilmektedir. Bu amaçla 23S rRNA gen bölgesini hedef alan DNA strip test Geno Type MTBC de kullanılmıştır. Etkene ait genomda Exact Tandem Repeat-D (ETR-D; Mikobakteriyel Serpiştirilmiş Tekrarlayan Ünite olarak isimlendirilen tekrar dizilerinin polimorfizminin kompleks üyelerinin, tür düzeyinde tanımlanmasında yüksek duyarlılıkta sonuç veren moleküler markerler olduğu da gösterilmiştir (14).

Mikobakterilerin genomu homojen ve stabildir. Genomunda çok az sayıda sessiz mutasyonlar oluşmakta ve genetik rekombinasyonlar genellikle transpozonlar gibi mobil elementler yoluyla veya tekrarlayan dizilerin polimorfizmi ile meydana gelmektedir. En basit transpozon olan insertion sequence (IS) genom üzerinde 14'den fazla farklı şekilde belirlenmiştir (14). IS ve tekrarlayan diziler farklı tür, dal ve alt dallarda farklı sayıda ve genomun farklı yerlerinde yerleşerek genetik polimorfizme neden oldukları bilinmektedir. Bu sebeple IS elementlerinin genom üzerindeki dağılımları suşlar arasındaki ayırımı sıklıkla kullanılmaktadır (14).

Günümüzde en çok kabul gören ve en sık kullanılan tekrarlayıcı elemanlar IS6110, DR (Direct repeat) ve MIRU'dur (Mycobacterial interspersed repetitive units) (48).

Restriction Fragment Length Polimorfizm (RFLP): IS6110 RFLP metodu 1990'lü yıllarda *M. tuberculosis* suşları için standart tiplendirme yöntemi olarak kullanılmıştır. MTK izolatlarında insertion sequence IS6110 farklı kopya sayısında ve farklı kromozomal entegrasyon bölgelerinde bulunmaktadır. IS6110 fragmentine dayalı epidemiyolojik çalışmalar yüksek derecede polimorfik olmasının yanında yeterince kararlı ve güvenilirdir. Düşük kopya sayılı suşlar daha homojen ve epidemiyolojik ilişkili fingerprint analizi yüksek kopya içeren suşlar kadar güvenilir değildir. RFLP yönteminde genomik DNA, *PvuII* restriksiyon endonükleaz ile kesim sonrası DNA fragmentleri jel elektroforezi ile yürütülür, sonra southern blot tekniği ile bir naylon membrana aktarılır. Membrana hibridize olan fragmentler bir IS6110 prob ve kemiluminesan kit ile görülür hale getirilir. Yöntem yüksek ayırım gücü ve tekrarlanabilirliği nedeniyle geçtiğimiz yıllar için referans standart metod olarak kullanılmasına rağmen yoğun üretilmiş kültür ihtiyacı, fazla miktarda DNA gerektirmesi, uzun süre ve laboratuvar çalışması nedeniyle RFLP yönteminin kullanımını kısıtlamıştır (49).

Spoligotyping: MTK Direct Repeat lokusu CRISPR (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-düzenli kümelenmiş spacer arası kısa palindromik tekrarlar) dizilim ailesi üyesidir. Spoligotyping PCR bazlı reverse dot blot hibridizasyon metodudur. Oldukça çabuk, kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. *M. tuberculosis* kompleksi genomunda farklı sayıda 36 baz çiftlik DR lokusu bulunmaktadır. DR lokuslarının aralarında 35-41 baz çifti uzunluğunda *spacer* olarak isimlendirilen dizilimler yer almaktadır. DR'lerin kopya sayıları ve spacer dizilimlerin varlığı suşlar arası farklılık gösterir. Bu metod DR lokusunun polimorfizmine dayanmaktadır, bu

polimorfizmler multiple direct variable repeat'leri (DVR) oluşturur. Her DVR, DR lokusu ve bu lokusun arasında bulunan spacer bölgelerini içermektedir (50).

Bu yöntemde DR lokusunu hedef alan biotinle işaretlenen primerler kullanılarak spacer bölgeler amplifiye edilmektedir. Daha sonra PCR ürünleri denatüre edilerek oluşan ampliconlar, membrana bağlanmış olan ve farklı spacer bölgelere komplementer olan 43 farklı sentetik spacer oligonükleotidin kovalent bağlarla immobilize edildiği bir membrana hibridize edilir. Spacer dizilimlerin varlığı hibridizasyon sinyalleri kemifloresan (ECF) veya kemilüminesan (ECL) kit kullanılarak membranının sabitleşme yüzeyinde leke şeklinde görülmektedir. Streptavidin alkalen fosfataz (ECF) veya streptavidin horseradish peroksidaz (ECL) enzimi kullanılır. Streptavidin alkalen fosfataz enzimine fosfat grubu içeren substrat eklenir. Enzim primerde bulunan biotin grubuna bağlanır, substrat eklenmesi sonrası alkalen fosfataz enzimi substratın fosfat grubunu ayırır ve 450-470 nm dalga boyuna sahip floresan sinyalleri açığa çıkar (50). Major filogenetik ayrımın belirlenmesinde Spoligotyping Database1(SpolDB1), SpolDB2 ve SpolDB3 daha sonra 2006 yılında SpolDB4 veri tabanı oluşturulmuştur (51).

Mycobacterial interspersed repetitive unit-variable number of tandem repeat (MIRU-VNTR): MIRU-VNTR yöntemi, MTK üyelerinin epidemiyolojik özelliklerini tespit etmede faydalanan hızlı, kolay ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Bu yöntemde MIRU lokuslarını içine alan bölgeleri tanıyan primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR ile elde edilen ampliconların büyüklükleri bu bölgelerdeki tekrar sayısının belirlenmesinde kullanılır (52). Tanımlama, tekrar sayıları dikkate alınarak yapılan numerik kodlama ile yapılır. Suş tiplendirmede öncelikle 12 lokus MIRU-VNTR yöntemi daha sonra 15 ve 24 lokustan oluşan standart MIRU-VNTR formatları geliştirilmiştir (52,53).

8. Tedavi

Günümüzde beşeri hekimlikte tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar, major ilaçlar ve minör ilaçlar olarak ikiye ayrılmaktadır (54). Sığırlarda tedavi uygulanmamaktadır.

Major ilaçlar: İzoniazid, rifampisin, streptomisin, etambutol içeren bu ilaçların toksisiteleri düşüktür ve birlikte kullanılmaları durumunda oldukça etkilidirler. bTB tedavisinde pirazinamid direnci unutulmamalıdır. Antibiyogram sonucunda duyarlılık belirlendiği sürece tüberküloz tedavisi major ile yapılmalıdır (54).

Minör ilaçlar: PAS (Para-amino salisilik asit), kanamisin, amikasin, ofloksasin, siprofloksasin, kapreomisin, etionamid, tiasetazon ve sikloserinden oluşmaktadır. Bu grup ilaçlar, majör ilaçlara göre daha az etkili, daha toksik, daha pahalı ve daha az tolere edilebilen ilaçlardır. Major ilaçlara karşı direnç geliştiği veya toksik etki meydana geldiği durumlarda bu ilaç seçenekleri kullanılmaktadır (54).

9. Korunma

İnsan ve hayvanlarda tüberkülozdan korunmak için *M. bovis* BCG aşısı kullanılır. Bu aşının sağladığı bağışıklık gücü değişkenlik göstermektedir. Bu nedenle tüberküloz enfeksiyonuna karşı yeni aşı geliştirme çalışmalarının yapılması gerekmektedir (55). Bu amaçla DNA, subunit protein, attenüe *M. bovis*, ölü non tüberküloz mikobakteri, mutant BCG, viral vektör aşılı ve bunların BCG ile kombinasyonları hayvan ve insanlar için deneme sürecindedir (55). Haile (2005) Lipoarabinomannan ile hazırladığı aşığı farelere burun yolu ile uygulayarak farelerde BCG aşısı kadar bağışıklık elde ettiğini rapor etmiştir (56).

10. Sonuç

Sonuç olarak sığır tüberkülozu zoonoz bir hastalıktır ve hayvanlarda da ciddi sürü sağlığı problemlerine neden olmaktadır. Halk sağlığı ve hayvan sağlığı açısından hasta hayvanların teşhis edilerek kesime gönderilmesi, etlerin uygun şekilde tüketilmesinin sağlanması, hasta hayvanların bulunduğu sürülerin yakın takibe alınması, süt ve et ürünlerinin uygun şekilde hazırlanması, yurt içi ve yurt dışından yapılacak hayvan nakillerinde tüberküloz test sonuçlarının mutlaka değerlendirilmesi, hastalıkla mücadele programlarının ciddiyetle yapılması, yaban hayatının bulaşta rollerinin değerlendirilerek gerekli önlemlerin alınması, hayvanlarla insanlarda tüberküloz mücadelesinin birlikte yapılması oldukça önem arz etmektedir.

Kaynaklar

1. Durupınar B, Mikobakteriler ve çevre koşullarına dayanıklılıkları, OMÜ Tıp Dergisi, 1996;13(4): 297-304.
2. Erkan L. Tüberkülozun tarihçesi, Ülkemiz ve dünyadaki durumu. OMÜ Tıp Dergisi 1996; 13(4): 291-294.
3. Sabar İR. Tüberküloz tarihçesi. Türkiye: Kemal Matbaası; 1956.

4. Barış İY. Çağlar Boyu Tüberküloz. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yötemleri Kurs Kitabı. Türkiye: Ofset Basım;2003.
5. Kaufmann SH, Baumann S, Nasser Eddine A. Exploiting immunology and molecular genetics for rational vaccine design against tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006;10(10):1068-1079.
6. Sakula A. BCG: Who were Calmette and Guerin? *Thorax* 1983; 38:806-812.
7. Karboul A, Gey van Pittius NC, Namouchi A, et al. Insights into the evolutionary history of tubercle bacilli as disclosed by genetic rearrangements within a PE-PGRS duplicated gene pair. *BMC Evol Biol.* 2006;6:107.
8. Collins DM. Advances in molecular diagnostics for *Mycobacterium bovis*. *Vet Microbiol.* 2011;151:2-7.
9. Garnier T, Eiglmeier K, Camus JC, Medina N, Mansoor H, Pryor M, Duthoy S, Grondin S, Lacroix C, Monsempe C, Simon S, Harris B, Atkin R, Doggett J, Mayes R, Keating L, Wheeler PR, Parkhill J, Barrell BG, Cole ST, Gordon SV, Hewinson RG. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*, *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100:7877-7882.
10. Koneman EW, Winn WC ve ark. *Mycobacteria*. *Konemans Colar Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (6rd ed.) USA:2006.*
11. Wayne LG, Kubica GP. *Mycobacteria* in: PHA Sneath (ed) *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, vol.2.* USA:The Williams&Wilkins Co., Baltimore;1986
12. Köksal F, Yaman A. Farklı bir bakteri topluluğu mikobakterilerde hücre duvarı yapısı. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu, Samsun. 2003;34-47.
13. Bilgehan H. *Mycobacteriaceae. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları.* Türkiye:Barış Yayınları;1990.
14. Peterson R. *Molecular Epidemiology of Tuberculosis.* Sweden. Karolinska Institutet;2009.
15. Thoen C, Lobue P, de Kantor I. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis, *Vet Microbiol.* 2006;112(2-4):339-345.
16. Brosman SA. *Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy.* *Urol Clin North Am.* 1992;19:557-564.
17. Hewinson RG, Michell SL, Russell WP, McAdam RA, Jacobs WR. Molecular characterization of MPT83: a seroreactive antigen of *Mycobacterium tuberculosis* with homology to MPT70. *Scand J Immunol.* 1996;43:490-499.

18. Aranaz A, Liebana E, Mateos A, Dominguez L, Vidal D, Domingo M, Gonzolez O, Rodriguez-Ferri EF, Bunschoten AE, Van Embden JDA, Cousins D. Space Oligonucleotide Typing of *Mycobacterium bovis* Strains from Cattle and Other Animals: a Tool for Studying Epidemiology of Tuberculosis. *Microbiol. Aust.* 1996; 34(11):2734-2740.

19. Haas DW. *Mycobacterial Diseases* In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (5 th ed). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, USA:Philadelphia Churcill Livingstone:2000.

20. Özbey G, Kalender H, Muz A. Sığır Tüberkülozu'nun Epidemiyolojisi ve Teşhisi. *Derleme. F Ü Sağ Bil Derg.* 2008;22(5):307-314.

21. Akçay E. Sığır tüberkülozunun teşhisinde kullanılan gamma interferon testi ile ELISA'nın karşılaştırılması değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi. Doktora Tezi. 2000.

22. Barwinek F, Taylor NM. Assessment of the socio-economic importance of bovine tuberculosis in Turkey and possible strategies for control or eradication:Turkish-German animal health information project General Directorate of Protection and Control;1996.

23. Hayvan Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele Programı. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 2005;22-24.

24. Hublart M, Moine G. Human tuberculosis caused by the bovine bacillus in Denmark after eradication of bovine tuberculosis *Bull Acad Vet Fr.* 1969;42(2):69-73.

25. Karlson AG, Carr DT. Tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* report of six cases:1954–1968. *Ann Intern Med.* 1970;73:979–983.

26. Poletaev SD. Pulmonary tuberculosis caused by mycobacteria of Bovine type. *Probl Tuberk.* 1970;48:38–41.

27. Grange J., Collins C., Yates M. Bacteriological survey of tuberculous lymphadenitis in south-east England: 1973–1980, *J Epidemiol Commun Health* 1982;36:157–161.

28. Kappler W, Kalich R, Fischer P. Incidence and significance of lung diseases caused by tuberculosis bacteria and atypical mycobacteria in East Germany *Z. Erkr. Atmungsorgane* 1986;167:42–46.

29. Ağaçayak A, Bulut Y, Seyrek A. Elazığ Yöresinde Tüberkülozlu Hastaların Balgam Örneklerinde Mikobakteri Tür Dağılımının PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2007;41:203-209.

30. Özbal Y. Tüberküloz immunolojisi. *Erciyes Tıp Derg.* 2006;28 (1):25-34.

31. Smith I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16 (3):463-496
32. Cox JS, Chen B, McNeil M, Jacobs WR. Complex lipid determines tissue-specific replication of *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Nature.* 1999;402:79-83.
33. Tuzcu N, Tuzcu M, and Akçakavak G. Sığırlarda farklı pnömoni tiplerinde Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF α), Malondialdehit (MDA), Prokalsitonin ve Neopterin düzeylerinin karşılaştırılması. *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Derg.* 2020;31(1);52-61.
34. Kobayashi K, Kaneda K, Kasama T. Immunopathogenesis of Delayed-Type Hypersensitivity. *Microsc Res Tech.* 2001;53:241-245.
35. Sayın Z. Sığırlarda Tüberkülozun Farklı Metotlar İle Karşılaştırmalı Teşhisi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Konya. 2010.
36. Menzies FD, Neill SD. Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. *Vet J.* 2000;160:92-106.
37. Neill SD, Bryson DB, Pollock JM. Pathogenesis of tuberculosis in cattle. *Tuberculosis.* 2001;81:79-86.
38. Palmer MV, Whipple DL, Olsen SC. Development of a model of natural infection with *Mycobacterium bovis* in white-tailed deer. *J Wild Dis.* 1999;35:450-457.
39. Veteriner Hekimin El Kitabı, Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, 2016;47-50.
40. Gemicioğlu B. Erişkinde tüberküloz kliniği ve tanısı. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri; Erişkin ve Çocukta Tüberküloz Sempozyumu. İstanbul, 1999;21-37.
41. OIE. Prescribed and alternative diagnostic test for OIE listed disease. *Terrestrial Animal Health Code.* 2008;1(3):1-5.
42. Wood PR, Corner LA, Rothel JS, Baldock C, Jones SL, Cousins DB, McCormick BS, Francis BR, Creeper J, Tweedle NF. Field comparison of the interferon-gamma assay and intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Austral Vet J.* 1991;68:286-290.
43. Kaya A, İçen H, Tuzcu N, Şimşek A, Yeşilmen S, Koçhan A; Yıldırım İ, Alan A. Comparison of Tuberculin Skin Test, IFN- γ Assay, Real Time PCR and Lateral Flow Rapid Test in Diagnosis of Field Outbreaks of Bovine Tuberculosis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2015;21-25.

44. Manzano JR, Blanquer R, Calpe JL, Caminero JA, Cayla J, Dominguez JA, Garcia JM, Vidalh R. Diagnosis and treatment of tuberculosis. Arch Bronconeumol. 2008; 44(10):551-566.

45. Hensyl WR. The Mycobacteria. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. Baltimore, USA: Williams&Wilkins;1994.

46. Bengisun JS, Gökırmak MÇ, Arıbal E, Saygun N, Özenci E. Tüberkülozun serolojik tanısında ELISA testinin tanı değeri. Ankara Üniversitesi Tıp Mecmuası, 1997;50 (4):193-195.

47. Durmaz R, Zozio T, Gunal S, Allix C, Dufaux MF, Rastogi N. Population-Based Molecular Epidemiological Study of Tuberculosis in Malatya, Turkey. J Clin Microbiol, 2007;45:4027-4035.

48. Jeon BY, Je S, Park J, Kim Y, Lee EG, Lee H, Seo S, Cho SN. Variable Number Tandem Repeat Analysis of *Mycobacterium bovis* isolates from Gyeonggi-do. Korea. J Vet Sci, 2008;9(2):145-153.

49. Allix C, Walravens K, Saegerman C, Godfroid J, Supply P, Dufaux MF. Evaluation of the Epidemiological Relevance of Variable-Number Tandem-Repeat Genotyping of *Mycobacterium bovis* and Comparison of the Method with IS6110 Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis and Spoligotyping. J Clin Microbiol. 2006;1951-1962.

50. Brudey K, Driscoll JR, Rigouts L, Prodinger WM, Gori A, Al-Hajoj SA et al. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. BMC Mikrobiol. 2006;6:23.

51. Lari N, Bimbi N, Rindi L, Tortoli E, Garzelli C. Genetic diversity of Human Isolates of *Mycobacterium bovis* Assessed by Spoligotyping and Variable Number Tandem Repeat Genotyping. Infect Genet Evol. 2011;11:175-180.

52. Supply P, Allix C, Lesjean S, Oelemann MC, Rušch-Gerdes S, Willery E, Savine E, Haas P, Deutekom H, Roring S, Bifani P, Kurepina N, Kreiswirth B, Sola C, Rastogi N, Vatin V, Gutierrez MC, Fauville M, Niemann S, Skuce R, Kremer K, Loch C, Soolingen D. Proposal for Standardization of Optimized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable-Number Tandem Repeat Typing of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 2006;12:4498-4510.

53. Smittipat N. Three-year population-based evaluation of standardized Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable Number of Tandem Repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. JCM. 2005;43:5034-5043.

54. Çilli A. Antitüberküoz İlaçlar ve Etki Mekanizmaları. 21.Yüyilda Tüberküoz Sempozyumu ve II. Tüberküoz Laboratuvar Tanı Yötemleri Kurs Kitabı. Ofset Basım. Samsun. 2003;163-172.

55. Gupta UD and Katoch VM. Animal models of tuberculosis for vaccine development. Indian J Med Res. 2009;129:11-18.

56. Haile M. Studies on new tuberculosis vaccine candidates in animal models. Swedish Institute for Infectious Disease Control, Thesis of Doctorate. Stockholm, 2005.

BÖLÜM III

KÖPEKLERDE OTOİMMÜN HASTALIKLAR

Autoimmun Disease in Dogs

Ömer KIZIL

(Prof.Dr), Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

e-mail: okizil@firat.edu.tr

ORCID: 0000-0003-0738-5065

1. Giriş

Organizma vücudu hastalık ve enfeksiyona neden olabilecek her türlü etkenden koruyan bir bağışıklık sistemine sahiptir. Bununla birlikte, bir otoimmün durum veya hastalık geliştiğinde, bağışıklık sistemi yanlışlıkla kendi doku ve hücrelerine saldırarak ciddi hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu durumda bağışıklık hücreleri vücudun normal sağlıklı hücre ve dokularını yabancı hücrelerden ayırt edemez ve normal dokuları yok etmeye çalışır. Otoimmün hastalıklar, tek veya birden fazla vücut sistemini etkileyebilir. Böyle bir durumda otoantikorlar cildi, bağ dokuları, sinirleri, kasları, endokrin sistemi, kırmızı kan hücrelerini ve sindirim sistemini olumsuz etkileyebilir (1). Köpeklerde bağışıklıkla ilgili hastalıkların altında yatan başlıca 6 faktör olup, bunların içinde en önemlisi genetik yatkınlıktır. İmmün hastalıklı köpeklerin yaklaşık %60'ı safkanlıdır ve safkanlık her zaman akrabalar arası yetiştirmeyi kapsar. Köpeğin cinsiyeti en yaygın ikinci ortak faktördür ve dişilerde daha yaygın ortaya çıkar. İmmün hastalıkların altında yatan üçüncü en yaygın faktör, diğer immünolojik bozuklukların varlığıdır. Dördüncü en yaygın kofaktör bulaşıcı hastalıklardır. Enfeksiyonlar alerjileri, otoantikorların oluşumunu, immün kompleks hastalıkları, hücre aracılı patolojileri, gamopatileri veya immün yetmezlikleri tetikleyebilir. Köpeklerde

immünolojik hastalıkların altında yatan en yaygın beşinci faktör ilaçlar, altıncı en önemli faktör ise kanserlerdir (2).

Otoimmün hastalıklar başlıca altı kategoride incelenmektedir. Bunlardan ilk dördü Gel ve Coomb's tarafından tanımlanmıştır (3). Bu kategoriler;

1. Homositotropik antikorların aracılık ettiği ve ani tip aşırı duyarlılık, yani alerji ile karakterize edilen Tip I hastalıklar.
2. Oto- veya allo-reaktif antikorların aracılık ettiği Tip II hastalıklar.
3. İmmün kompleksi birikiminin aracılık ettiği ve vaskülit ile karakterize edilen tip III hastalıklar.
4. Hücre aracılı immün reaksiyonların aracılık ettiği ve plazmasitik/ lenfositik infiltratlarla kendini gösteren Tip IV hastalıklar.
5. Gammopatilerle kendini gösteren Tip V hastalıklar.
6. İmmün yetmezlik ve fırsatçı tip enfeksiyonlarla kendini gösteren Tip VI hastalıklar.

2. Köpeklerde Önemli Otoimmün Hastalıklar

2.1. Hipotroidizm

Köpeklerde hipotroidizm, tiroid bezinin yeterli miktarda hormon üretmediği durumu ifade eden bir terim olup (4) bu durum, köpeğin tiroid bezindeki bir hastalığa veya doğumsal kusurlara bağlı olarak ortaya çıkabilir. Köpeklerde hipotroidizmin en olası nedenlerinden biri otoimmün tiroidite bağlı ortaya çıkan tiroid hasarıdır. Otoimmün tiroidit, bir köpeğin otoimmün sisteminin tiroide karşı antikorlar geliştirmesi ve ona saldırması, hasara neden olması ve işlevini engellemesi durumudur. Böyle bir durumda gözlenen en yaygın semptomlar arasında letarji, deri kalınlaşması, simetrik ve kaşıntılı olmayan kıl kaybı, obezite, iştah artmamış olmasına rağmen kilo alma, soğuk ve egzersiz intoleransı gibi bulgular yer alır. Bazı köpek ırkları, otoimmün tiroidite yatkın olup Akita, Doberman Pinscher, Dachshund, Beagle, Miniature Schnauzer ve Golden Retriever'larda bu bozukluk daha yaygındır (5-7).

Köpeklerde hipotroidizmin tedavisinde tiroid hormonu takviyesi yapılmalıdır. Bu ilaçlar periyodik olarak doze edilmelidir ve bir köpeğin hayatının geri kalanında kullanılması gerekli olabilir. Hipotroidizm için standart tedavide, sentetik tiroid hormonu olan levotiroksinin (L-T4) günlük oral uygulaması gerekir. Bu oral ilaç, hipotroidizmin klinik belirtilerini tersine çevirerek dolaşımda yeterli tiroid hormonu konsantrasyonlarını geri kazandırır.

Köpeklerde L-T4'ün bildirilen idame dozu günde bir veya iki kez aç karnına verilen 0,02–0,04 mg/kg aralığındadır. Uyuşukluk genellikle birkaç hafta sonra düzelir. Çoğu klinik belirti ise 4-6 hafta içinde iyileşir, ancak dermatolojik değişikliklerin düzelmesi aylar alabilir (8,9). Uygulanan tedavinin başarısız olma ihtimali oldukça düşüktür. Tedavide hedeflenen T4 konsantrasyonuna ulaşamamasının olası nedenleri arasında, hasta sahibinin ilacı uygulamadaki başarısızlığı, hastanın ilacı yutmayı reddetmesi ve levotiroksinin değişken gastrointestinal emiliminin olması birer neden olarak karşımıza çıkabilir (10,11). Şayet ilaç kullanımı sonrası hedeflenen T4 düzeylerine ulaşamamışsa ve klinik belirtiler kontrol altına alınamamışsa, ilacın dozu %25 oranında artırılarak ilaç kullanım sıklığı günde ikiye çıkarılabilir. Köpekler genellikle aşırı levotiroksin takviyesinin etkilerine karşı dirençlidir. Ancak poliüri/polidipsi ve hiperaktivite gibi klinik belirtiler gelişebilir (8).

2.2. *Lupus Eritamatozus*

Köpeklerde iki tür lupus eritamatozus gözlenir. Birincisi sistemik lupus eritamatozus (SLE), diğer ise diskoid lupus eritamatozus (DLE)'tur. DLE daha yaygın gözlenen ve hafif bulgularla seyreden for iken, SLE daha nadir gözlenen ve şiddetli bulgularla seyreden formdur (12). SLE'li köpeklerde vücutlarının bağışıklık sistemi deriye, kana, sinir sistemine ve ana organlara saldırır (8). SLE'de genellikle birkaç organ etkilenir ve köpekler için ölümcül olabilir. Köpeklerde SLE semptomları, vücudun hangi bölümünün hedeflendiğine bağlı olarak büyük ölçüde değişir. Hastalık bazı yöntemlerle yönetilebilir ancak tamamen iyileştirilemez. Başlıca gözlenebilen semptomlar arasında, ateş, anemi, büyümüş lenf yumruları, kas ağrısı ve halsizlik, nöbet tarzı hareketler, aşırı susama, ağızda ülserler, dalak, böbrek ve karaciğerde büyüme, deri lezyonları, kıl örtüsü kaybı ve topallık gibi bulgular yer alabilir. SLE'den en çok Afghan Hounds, Beagles, Alman Çoban Köpekleri, İrlandalı Setterler, İngiliz çoban köpekleri, Poodles, Rough Collies ve Shetland Sheepdogs'lar etkilenir. SLE geliştiren köpekler genellikle cilt problemleri veya topallık şikayetleri nedeniyle ilk olarak muayeneye götürülürler (13).

SLE'nin teşhisinde kan testleri gereklidir. SLE'li köpekler tipik olarak anti nükleer antikorlar (ANA) için pozitif teste sahiptirler. Teşhiste tipik olarak, en az iki önemli klinik bulgu ile pozitif bir ANA testinin bir arada değerlendirilmesi yapılır. Hastalıkla uyumlu bir tane tipik bulgu yanında daha az önemli iki adet bulgu ile pozitif bir ANA testi de SLE'nin göstergesidir. Bunun yanı sıra sadece

bir önemli bulgu ile pozitif ANA testi varsa veya negatif ANA testi ile iki önemli bulgu varsa SLE'den şüphelenilebilir. İlaç reaksiyonları ve kanser gibi diğer sorunlar, aynı işaretlerin çoğuna sahip olabilir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta, ANA testi herhangi bir kronik yangısal hastalıkta da pozitif olabilir, dolayısıyla başka tutarlı patolojik veya klinik belirtiler yoksa, SLE açısından yanlış pozitif bir ANA yorumlamasından kaçınılmalıdır (14).

Öncelikle SLE tamamen tedavi edilemez. Tedavi, inflamasyonu ve otoimmün aktiviteyi azaltmaya amaçlar ve bu nedenle özellikle yangı giderici ve immunsupresif etkilerinden dolayı kortikosteroidler (prednisolone) kullanılır. Bazen azathioprine, cyclophosphamide veya cyclosporine gibi ikinci bir immün baskılayıcı gerekebilir. Tedavi planları hazırlanırken hangi organların etkilendiğine bakılarak, özellikle böbrek veya dalak hasarı gibi spesifik problemlerin de tedavi edilmesi gereklidir. Güneş ışığındaki ultraviyole ışınlar SLE'nin alevlenmesine neden olabilir, bu nedenle bu tip hastaların güneş ışığına maruz kalmaları sınırlandırılmalıdır (13).

DLE çok daha yaygın görülen, köpeklerde özellikle burun bölgesi derisini etkileyen ve özellikle collie ve Shetland sheepdog'larda kalıtsal olarak gözlenebilen hastalık formudur (14). Klinik bulgu olarak deride yaralar ve ülserler, burun ucu bölgesinde pigment kaybı, kaşıntı, tırmalama, özellikle yüz, burun ve dudaklarda kızarıklık, deride pullanma yanında deride bakteriyel sekonder enfeksiyon belirtileri gözlenebilir (15). DLE, multisistemik belirtilerin olmaması ve negatif anti-nükleer antijen (ANA) testi ile sistemik lupus eritematozusan (SLE) ayrılır (16).

DLE'un teşhisinde lezyonlu deri bölgesinin biyopsisinin yanı sıra bölgenin fiziki muayenesi gereklidir. Bu biyopsi, benzer semptomlara neden olan diğer durumları ayırt etmede ve köpekte DLE'yi doğrulamada yardımcıdır. Steroidler immün baskılayıcı etkileri nedeniyle DLE tedavisinde faydalı olmakla beraber, istenmeyen bazı sistemik yan etkilere de sahiptirler. Topikal steroidler kullanılarak bu tip istenmeyen yan etkiler en aza indirilebilir. Topikal steroidler ile tedaviye günde iki kez olacak şekilde başlanır ve sonradan iyileşme durumuna göre doz ayarlaması yapılır. Bununla beraber DLE tedavisinde prednizolon (0.5 mg/kg, günde 2 kez) ile oral kortikosteroid tedavisi yanında, antibakteriyel (klorheksidin) ve yumuşatıcı içeren bir şampuan kullanımı etkili bulunmuştur. İlâveten itrakonazol (5 mg/kg, günde 2 kez) ile kombinasyon halinde ofloksasin uygulaması da etkili olmuştur. Bu tedavi ile sırt derisinin eritematöz plakları ve kabuklarının 6 haftalık tedavi boyunca kademeli olarak düzeldiği ve takip eden 5 ay boyunca da deri lezyonlarının tekrarlamadığı ifade edilmiştir (15). İnsan

kullanımı için üretilen ve topikal bir immünomodülatör olan 0.1% Tacrolimus DLE'de çok etkilidir ve ayrıca köpekler tarafından yalandığında da sorun yaratmaz. Tetrasiklin, antibiyotik özelliklerinden ayrı olarak immünomodülatör özelliklere sahip bir antibiyotiktir. Niasinamid, niasin (B3 vitamini) katkılı bir B vitamini takviyesidir. Bu iki ilacın kombinasyonunun DLE'li köpeklerin tedavisinde %70'e yakın oranda etkili olduğu bulunmuştur, ancak olumlu bir etkinin görülmesi için yaklaşık iki aylık bir süreye ihtiyaç vardır (17).

2.3. Immune-Mediated Thrombocytopenia (IMT, Bağışıklık Aracılı Trombositopeni)

Köpeklerde IMT, bağışıklık sistemi unsurları trombositlere saldırdığında ortaya çıkar. IMT birincil bir hastalık olabileceği gibi ikincil bir hastalık da olabilir (18). IMT, köpeklerde trombositopeninin en yaygın nedenlerinden biri olup (19) hastalarda, otoantikorlar trombosit yüzeyine yapışarak retiküloendotelial sistem tarafından klirensin artmasına ve trombosit sayılarının azalmasına yol açar (20). Birincil immün aracılı trombositopeni tanısı ancak altta yatan olası nedenler dışlandıktan sonra konulabilir (21). İkincil bir hastalık olarak IMT, bağışıklık sistemi enfeksiyon veya kanser gibi başka bir durumla savaşırken yanlılıkla trombositleri yok ettiğinde ortaya çıkar. IMT dişi köpeklerde erkeklere göre daha sık karşılaşılan bir durumdur. Klinik bulgu olarak etkilenen köpeklerde burun kanaması, deride ve diş etlerinde morarma, idrar ve dışkıda kan izleri, zayıflık ve letarji dikkati çeker (22).

İmmünsüpresif ilaçlar IMT tedavisinin temel dayanağıdır ve tedavide birincil olarak kortikosteroidler kullanılarak trombositlerin yıkımı önlenmeye çalışılır. Her ne kadar vinkristin ve insan intravenöz immünooglobülinin kullanımının trombosit iyileşme süresini hızlandırdığı ve hastanede yatış süresini kısalttığı gösterilmiş olsa da, kortikosteroidler dışında başka herhangi bir ilacın tek başına sağaltımda uzun süreli yararı gösterilememiştir. Hastalık esnasında ne kadar kan kaybedildiğine ve total kan sayımı sonuçlarına bağlı olarak, trombosit açısından zengin bir plazma transfüzyonu da tedavide gerekli olabilir. Ayrıca kafes istirahati yanında egzersiz kısıtlaması ve kanamaya neden olabilecek tüm aktivitelerin ortadan kaldırılması önemlidir (22,23).

2.4. Pemfigus Kompleks

Pemfigus, mukoza zarlarında ve/veya deride sekonder erozyonlarla birlikte gevşek kabarcıklar ve/veya püstüller ile karakterize bir grup nadir mukokutanöz

otoimmün büllöz hastalığı tanımlamak için kullanılan bir terimdir (24). Pemfigus kompleksinde, vezikülobüllöz, püstüler, eroziv ve/veya ülseratif lezyonlar genellikle epidermisle sınırlı lezyonlara neden olur. Daha spesifik olarak, bu lezyonlar suprabasiller olup, her varyant epidermal tabaka içindeki konumu ve lezyonların vücuttaki konumu ile karakterize edilir. Pemfigusta ortaya çıkan lezyonların patogenezi tam olarak anlaşılamamış olsa da, otoantikorun epidermal hücre zarı veya glikokaliksteki bir antijene bağlanması, pemfigus antikorunun içselleştirilmesi ve antikorun hücre içi lizozomlara infüzyonu ve bunun sonucunda hücre dışı boşluğa yayılan ve glikokaliksi hidrolize eden keratinosit proteolitik enzim(ler)in salınmasına neden olarak hücreler arası bağların bozulmasına ve akantolize neden olması şeklinde açıklanmaktadır (25,26). Keratinositler ve çevreleyen hücreler, ağırlıklı olarak dezmozomlar tarafından bir arada tutulur ve birçok protein türünden oluşan karmaşık bir ağ ile bir tür hücre adezyonu oluştururlar (27). Bu tip hastalıklarda, otoantikorlar (AA) sıklıkla hücreler arası adezyonun kuvvetini korumak için gerekli olan spesifik epidermal ve/veya mukozal keratinositik desmozomal adezyon proteinlerini hedefler, bu da hücrel adezyon kaybına, bulla oluşumuna ve klinik lezyonlara yol açar (28).

Pemfigus vulgaris özellikle deri, ağız boşluğu ve mukokutanöz bileşelerde hızla eroziv/ülseratif lezyonlara dönüşen vezikülobüllöz lezyonlar ortaya çıkar. Pemfigus vulgarisli köpek ve kedilerin büyük çoğunluğunda oral lezyonlar mevcut olup, lezyonlar sadece bu bölgelerde sınırlı değildir ve köpeklerdeki deri lezyonları genellikle koltuk altı ve kasık bölgelerinde de bulunur. Bu pemfigus türü, epidermisin en derin katmanlarını etkileyerek onu en şiddetli pemfigus türü yapar (29). Pemfigus vulgaris vezikülobüllöz bir hastalık olmasına rağmen, veziküller çok geçici ve kırılabilir yapıda oldukları için klinik lezyonlar daha çok ağırlı erozyon ve ülserler olarak ortaya çıkar. (30).

Pemfigus vegetans, pemfigus vulgarisin iyi huylu bir varyantı olup, köpeklerde nadiren gözlenmektedir (31).

Pemfigus foliaceus en yaygın otoimmün deri hastalığı formu olup, köpeklerde lezyonlar yüzle başlar ve daha sonradan tüm vücuda yayılır (32). Keratinositlerin akantolizi, epidermal hücre tabakalarının ayrılmasına ve bütünlüğünün kaybına neden olarak deri ve/veya mukoza zarlarında hızla erozyon, kabuk, pul ve alopesiye dönüşen geçici püstüller ve/veya kabarcıklarla sonuçlanır (33). Pemfigus foliaceus'ta lezyonların anatomik dağılımı ve derinliği, hedeflenen desmozomal proteine bağlıdır. Desmocollin-1 (DSC-1), öncelikle foliküler ve interfoliküler epidermisin (stratum granulosum ve stratum

spinosum) yüzeysel katmanlarında dağılan ancak mukozada dağılmayan bir desmozomal proteindir. DSC-1, Pemfigus foliaceus'lu köpeklerde ana otoantijendir (34). Bu nedenle, DSC-1'in patojenik immünoglobulin G (IgG) otoantikörleri tarafından farklı mekanizmalarla bozulması, deride yüzeysel kabarcık oluşumuna neden olur, ancak mukozalarda lezyon oluşmaz. Tersine bir şekilde, epidermin ve mukozanın daha derin katmanlarında daha yüksek yoğunlukta salgılanan bir desmozomal protein türü olan desmoglein-3 (DSG-3) bu otoantikörler tarafından hedef alındığında ise derin eroziv bir pemfigus formu olan pemfigus vulgaris gelişir (35).

Pemfigus foliaceus'a Bearded Collie, Akita, Doberman Pinscher, Newfoundland ve Schipperke'nin predispoze oldukları bilinmektedir (36). Lezyonlar genellikle gövde, kulak kepçesi, sırt bölgesi, ayak yastıkları, perioküler alan ve nazal planum boyunca dağılmış püstüller, erozyonlar, kabuklar, alopesik alanlar ile pullanma şeklinde karşımıza çıkar (37). Tanıda, anamnez bilgileri, klinik bulgular ve deri lezyonlarının sitolojik incelemesinde akantolitik keratinositlerin belirlenmesi önemlidir. Kesin tanı için direk ve indirek immüno Floresan gibi ileri immünolojik testlerde kullanılabilir (38). Köpeklerde pemfigus foliaceus'un prognozu pek elverişli olmayıp, nüksler yaygın olarak görülür.

Pemfigus eritematozus, Pemfigus foliaceus'un bir varyantı olarak kabul edilir. Lezyonlar yüzde sınırlıdır ve yaygın değildir. Collie ve German shepherds'lar pemfigus eritematozusa karşı predispozitedir (39).

Tüm pemfigus türlerinin tedavisi immünosupresif veya immünomodülatör ilaçlar gerektirir. Genel olarak, pemphygus vulgaris daha inatçı bir hastalık olma eğilimindedir ve tedavisi ve yönetimi de bu nedenle daha zordur. Tedaviye rağmen birçok vaka yine de ölebilir. Köpeklerde tedavi amacıyla glukokortikoidler (oral, topikal), azatiyoprin, siklosporin, mikofenolat mofetil, klorambusil, topikal glukokortikoidler veya kalsinörin inhibitörleri ve daha az yaygın olarak tetrasiklin ve niasinamid kombinasyonu kullanılabilir (40).

Lokalize durumlar lokal kortikosteroid uygulamasıyla kontrol altına alınabilirken, inatçı olaylarda hem sistemik hem topikal kortikosteroid uygulaması da yapılabilir. Başlangıçta güçlü etkili bir kortikosteroid seçilir, beklenen etki görülmeye başlandığında ise daha az etkili bir lokal kortikosteroid geçilir. Güçlü topikal glukokortikoidlerin sürekli kullanımı (günde bir kez, 14 gün veya daha uzun süre) atrofi, alopesi ve lokalize piyodermaya neden olabilir. Perkütan absorpsiyon veya yalama yoluyla sistemik absorpsiyon da önemli bir sorun olup, iyatrojenik hiperadrenokortisizm, güçlü glukokortikoidlerin neden olduğu

bir sorun olarak bazı durumlarda ortaya konmuştur (41). Glukokortikoidlerin bu hastalıklarda nasıl etkili olduklarına dair çok sayıda mekanizma vardır, ancak özellikle hümmoral ve hücre aracılı bağışıklık, fagositik savunmalar ve yangı mediatörlerinin inhibisyonu ile otoantikör seviyelerinin baskılanması üzerindeki etkileri bu konuda ön plana çıkmaktadır (42).

Tedavide yaygın olarak immünosüpresif dozlarda prednizon veya prednizolon, kullanılır. Tedaviye her 24 saatte bir 2.2–4.4 mg kg'lik başlangıç dozları şeklinde başlanır, 10-14 gün içinde bir yanıt görülürse bu doz kademeli olarak 30-40 gün boyunca günlük olarak azaltılır ve ardından her 48 saatte bir, 1 mg/kg olacak şekilde doz ayarlaması yapılır. Bununla beraber daha az oranda poliüri ve polidipsiye neden olması, ayrıca bazı vakalarda daha iyi sonuç vermesi nedeniyle metilprednizolonun, prednizon veya prednizolona tercih edilmesi gerektiği de vurgulanmaktadır. Metilprednizolonun, doz ayarlaması prednizon veya prednizolon ile aynıdır. Oral triamsinolon veya oral deksametazon, daha dirençli vakalarda veya şiddetli poliüri ve polidipsi veya diğer davranışsal veya bireysel değışiklikleri olan vakalarda kullanılabilen alternatif glukokortikoidlerdir. Bu glukokortikoidlerin prednizon veya prednizolondan 6-10 kat daha güçlü olduğu düşünölmektedir. Bu ilaçların başlangıç immünosüpresif dozları, triamsinolon için her 24 saatte bir 0.2- 0.6 mg/kg ve deksametazon için her 24 saatte bir 0.2-0.4 mg/kg aralığındadır. (43). Şiddetli pemfigus foliaceus veya vulgaris vakalarında, tek doz veya en fazla iki doz olacak şekilde, bazen şok dozlarında prednizolon sodyum süksinat (10 mg/kg, IV) veya deksametazon (1 mg/kg, IV) tercihen kullanılabilir (44). Uzun süreli oral glukokortikoid tedavisinde en yaygın görölenler yan etkiler arasında zayıf/donuk/pullu kıl örtüsü, kas atrofisi, poliüri, polidipsi, polifaji, kilo alımı, davranış değışiklikleri ile deri ve idrar kesesi enfeksiyonları gibi sekonder enfeksiyon riskinde artışla karşılaşılabilir. Uzun süreli glukokortikoid tedavisi alan köpeklerde demodikoz ve dermatofitoz olaylarıyla da daha karşılaşılmaktadır (43). Azathioprine, köpeklerde pemfigus vakalarında tercih edilebilen başka bir immünosüpresif ilaçtır. Bu ilaç her 24–48 saatte bir 1.5–2.5 mg/kg olacak şekilde kullanılır. Nükleik asitlerin sentezine müdahale eden ve T hücreleri için sitotoksik olan bir antimetabolit olup, en önemli etkisi T hücre bağımlı antikör sentezi üzerinedir. Etkisi yavaş başlar ve klinik etkilerinin görölmeye genellikle 4-8 hafta sürer. Olumsuz yan etkileri arasında başlıca miyelosüpresyon (lenfopeni, anemi ve lökopeni), diyare ve uzun süreli kullanıldığında piyoderma, demodikoz ve dermatofitoz gibi fırsatçı enfeksiyonlara karşı artan duyarlılık yer almaktadır (44). Tetrasiklin ve niasinamid kombinasyonu, pemfiguslu

köpeklerin tedavisine yardımcı olan ve değişik başarı oranlarına sahip bir kombinasyon olarak kullanılmıştır. Yüz bölgesiyle sınırlı pemfigus foliaceus veya pemfigus eritematozus gibi lokalize vakalardaki etkileri daha başarılı bulunmuştur. Tetrasiklinler, kompleman aktivasyonunu, antikor üretimini, kemotaksisi, prostaglandin sentezini, lipazları ve kollajenazları etkileyen anti-inflamatuar özelliklere sahiptirler. Niasinamid ise mast hücre degranülasyonunu ve fosfodiesterazı inhibe eder. Bu kombinasyonun olumsuz yan etkileri arasında kusma, ishal, iştahsızlık ve karaciğer enzimlerinde artma yer alır (43).

2.5. Adison Hastalığı

Addison hastalığı, köpeklerde hipoadrenokortisizm olarak da adlandırılır ve köpeğin adrenal bezleri yeterli düzeyde steroid hormonları, özellikle kortizol ve aldosteronu üretmediğinde ortaya çıkar (45,46). Adrenokortikal hormonların eksikliği ile karakterize olan hastalık yaygın olarak genç ve orta yaşlı köpeklerde görülebilmektedir. Hastalığa, Standard Poodles, West Highland White Terriers, Great Danes, Bearded Collie'ler, Portekiz Su Köpekleri gibi ırklarda yatkınlık söz konusudur. Primer adrenokortikal yetmezliğin nedeni genellikle bilinmemekle birlikte, çoğu vaka muhtemelen bir otoimmün sorundan kaynaklanmaktadır. Olası diğer nedenler arasında adrenal bezin granüloamatöz hastalığı, metastatik tümörler, kanamalar, enfarktüsler, adrenolitik ajanlar (mitotane) veya adrenal enzim inhibitörleri (trilostane) tarafından oluşturulan hasarlar yer alır (47).

Başlıca mineralokortikoid hormon olan aldosteron salgılanmasındaki azalma, serum potasyum, sodyum ve klorür seviyelerinde belirgin değişikliklere neden olur. Böbrekler tarafından potasyum atılımı azalır ve serum potasyum seviyelerinde ilerleyici bir artışa neden olur. Renal tübüler kayıpla alakalı olarak hiponatremi ve hipokloremi şekillenir (48). Şiddetli hiperkalemi bradikardiye ve EKG'de değişikliklerle birlikte düzensiz kalp atımına neden olabilir. Bazı köpeklerde belirgin bir bradikardi (kalp hızı ≤ 50 vuru/dakika) gelişir ve bu da hayvanı minimum efordan sonra halsizliğe veya dolaşım şokuna predispoze kılar (49,50). Sodyum ve klorürün geri emiliminin azalması nedeniyle böbrekler tarafından artan su atılımı, ilerleyici dehidrasyon ve hemokonsantrasyon ile sonuçlanır. Kusma, ishal ve iştahsızlık yaygın olup hayvanın genel durumunun bozulmasına katkıda bulunur. Kilo kaybı sıklıkla şiddetlidir (51-53).

Hastalığın tahmini teşhisinde anamnez bulguları, hiponatremi, hiperkalemi, sodyum:potasyum oranı $< 25:1$, azotemi, hafif asidoz ve normositik, normokromik anemi önemli ip uçları verir. Şiddetli gastrointestinal kanama yanında hafif

dereceli hipoglisemi bildirilmiştir. Gelişen hiperkalemi T dalgasında yükselme, P dalgasında düzleşme veya yokluk, uzamış P-R aralığı ve QRS kompleksinde genişleme gibi EKG değişikliklerine neden olur. Potasyum düzeyleri >11 mEq/L olduğunda ventriküler fibrilasyon veya asistol meydana gelebilir (54).

Hastalığın başarılı tedavisinde, kan hacminin hızlı bir şekilde restorasyonu ve elektrolit/asit-baz bozukluklarının düzeltilmesi gereklidir (55). Hastaya damar içi yolla %0.9 tuz infüzyonuna başlanmalı ve şayet köpek hipoglisemik ise bu solüsyon %2.5-%5 oranında dekstroz içermelidir. Hipovolemi durumu %0,9 tuz solüsyonunun ilk 1-2 saat boyunca 60-70 mL/kg/ka dozunda uygulanmasıyla hızla düzeltilebilir. Sıvı tedavisine klinik belirtiler ile laboratuvar anormallikleri düzelen ve devam eden kayıplar karşılancaya kadar uygun bir hızda devam edilmelidir.

Şokun başlangıç tedavisinde prednizolon sodyum süksinat (22–30 mg/kg) veya deksametazon sodyum fosfat (0,2–1 mg/kg) kullanılabilir. Prednizolon veya prednizon tedavinin ilk birkaç gününde günde iki kez 1 mg/kg ve ardından 0.25-0.5 mg/kg/gün şeklinde verilmelidir. Şiddetli ve yanıt alınamayan hiperkalemi vakalarında, hücre içine potasyum hareketini artırmak için 30-60 dakika süreyle %0.9 tuz solüsyonu içerisinde %10 glukoz verilebilir. Uzun süreli idame tedavisi için mineralokortikoid desoksikortikosteron pivalat (DOCP), her 25-28 günde bir, 2.2 mg/kg dozunda kas içi veya deri altı yolla uygulanır. Alternatif olarak, fludrokortizon asetat 10-30 mcg/kg/gün peros olarak uygulanmalı ve uygun doz belirlenene kadar serum elektrolit düzeyleri haftalık olarak izlenmelidir (47).

2.6. İmmün Aracılı Hemolitik Anemi (Immune-Mediated Hemolytic Anemia (IMHA))

İmmün aracılı hemolitik anemi (IMHA), küçük hayvanlarda en yaygın anemi türlerinden biridir. Hastalıkta kısa sürede kırmızı kan hücrelerinin (RBC)ler) immün aracılı yıkımı gerçekleşir ve toplam RBC kütlelerinde hızlı bir azalma ile sonuçlanır. IMHA'da, bağışıklık sistemi artık eritrositleri kendinden olarak tanımaz ve dolaşımdaki eritrositlere karşı antikorlar üreterek, makrofajlar ve kompleman tarafından eritrositlerin yıkımına yol açar (56).

IMHA, alta yatan hastalığın varlığına göre primer ve sekonder olmak üzere iki ana tipe ayrılabilir. Primer (idiyopatik) IMHA, alta yatan tanımlanabilir bir nedeni olmayan otoimmün bozukluğun klasik bir örneğidir ve IMHA'nın baskın şeklidir (57). Otoantikorlar, hayvanın kendi eritrosit membran antijenlerine karşı üretilir. Plazma zarını kapsayan bir glikoprotein olan glikoforin, otoantikorlar

tarafından hedeflenen en yaygın eritrosit membran antijenlerinden biridir (58). Normalde, otoantikörlerin konak dokularla reaksiyona girmesi baskılayıcı T hücreleri tarafından engellenir. Bununla birlikte, IMHA'dan etkilenen hayvanlarda, otoantikörlerin normal hücelere bağlanmasına ve eritrosit yıkımını tetiklemesine izin veren baskılanmış T-hücresi işlevine veya aşırı uyarılmış bağışıklık sistemlerine sahip olduklarına inanılmaktadır (59). Sekonder IMHA, sistemik lupus eritematozus, neoplazi, aşılama, kan parazitleri ve bazı ilaçların uygulanmasına sekonder yanıt olarak ortaya çıkabilmekle birlikte, hastaların çoğunluğu idiyopatik kabul edilir (60). Çeşitli ilaçların (Ör: sülfamiazol, penisilinler, sefalosporinler, levamisol, insülin, asetaminofen, tetrasiklin, fenilbutazon, dipiron, kinidin, klorpromazin) IMHA'ya neden olduğu öne sürülmüş olmasına rağmen bu konuda yeterince kanıt bulunmamaktadır (61,62). Özellikle penisilin ve sefalosporinler ile ilişkili IMHA için önerilen ana mekanizmada, ilaç veya ilaç parçalanma ürünlerinin eritrosit zarına yapışması ve ardından kompleman saldırısının uyarılması yer almaktadır. Sülfonamidler, kinidin, insülin, asetaminofen ve tetrasiklin, IgM antikör üretimini başlatabilirler. Sonuç olarak ortaya çıkan ilaç-antikör kompleksi, eritrositlerin membranlarına bağlanır ve kompleman aktivasyonu başlayarak intravasküler hemoliz ile sonuçlanır (63).

IMHA, Cocker, Springer Spaniel, Old English Sheepdog, Bichon Frise, Collie, Irish Setter, Poodle ve düz tüylü Retriever'lar dahil olmak üzere birçok ırkta belirgin bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (60,64). Genel olarak, dişilerin IMHA için erkeklerden daha yüksek risk altında olduğu bildirilmiş ve kısırlaştırma işlemi potansiyel olarak predispozan bir faktör olarak kabul edilmiştir (65).

IMHA, IgG, IgM ve IgA dahil olmak üzere anti-RBC antikörlerinin doğrudan veya dolaylı olarak RBC zarının çeşitli bileşenlerine bağlandığı tip II aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak kabul edilir (66). İmmünglobulinin hücre zarına bağlanması, ekstrasvasküler hemoliz, intravasküler hemoliz ve intravasküler RBC aglütinasyonuna neden olabilir. IgM, komplemanı bağlamada, IgG'den daha iyi olduğu için, intravasküler hemolizin IgM aracılı hastalıkta ortaya çıkma olasılığı daha yüksektir (67). Hastalıkta sıklıkla tromboembolizm ile ilişkili olarak %70'ler düzeyinde ölüm oranı bildirilmiştir (68). Pulmoner tromboembolizm (PTE), IMHA'lı köpeklerde yaygın olarak tanımlanmış olmasına rağmen, etiyojisi hala belirsizliğini korumaktadır. Ancak kan akımındaki değişimler, kandaki prokoagulatör ve antikoagulatör dengedeki değişimler ve damar duvarındaki hasarlar trombozun patogenezinde

etkili olabilir (69). IMHA'da trombosit sayısındaki azalma, DIC nedeniyle artan tüketim, kanama nedeniyle artan kayıp veya immün aracılı mekanizmalar tarafından artan yıkımdan kaynaklanabilir (70).

Teşhiste göz ününde bulundurulan kriterler arasında, hematokrit değerinin %25-30'ların aşağısında olduğu anemi durumu, hemoglobinemisi ve hemoglobüri ile karakterize hemoliz bulguları, otoaglutinasyon, sferositoz ile eritrositlere yönelik antikorların kanıtı veya doğrudan bir antiglobulin (Coombs') testinden alınan pozitif sonuçlar, aneminin olası diğer nedenlerinin elimine edilmesi ve immünyüpresif tedaviye alınan uygun yanıt yer almaktadır (71,72). IMHA teşhisinde en basit ve faydalı test, retikülosit sayımını da içeren tam kan sayımıdır. IMHA'lı hastalar hafif ile şiddetli arasında değişen ve çoğunlukla da rejeneratif özellikte anemiye sahiptir (73). Retikülositozis, polikromazi, çekirdekli eritrositler ve anizositozis gibi rejenerasyon belirtilerini belirlemek için kan yayması analizi yapılmalıdır (71). Retikülositlerin sayısı kan kaybı, hemolitik hastalıklar veya diğer anemi türlerinin rejenerasyonuna yanıt olarak periferik kanda artar. Köpeklerde 60.000/μl'den daha yüksek retikülosit sayısı, eritrosit rejenerasyonunun göstergesidir. Sağlıklı, anemik olmayan köpeklerin periferik kanlarında %0,5 ile %1 oranında retikülosit bulunur (74). Anti-eritrositik antikor düzeyleri aglutinasyona neden olamayacak kadar düşük olan hastalar genellikle Coombs' veya antiglobulin testi ile belirlenebilirler (75). Direk ve indirek olmak üzere iki tür Coombs' testi vardır. İndirek Coombs testi serumdaki eritrositlere karşı gelişen antikorları tespit ederken, direk Coombs' testi, eritrositlere bağlı antikorları tespit eder. IMHA'lı hastalar doğrudan Coombs testi ile test edilmelidirler, bu olayla alakalı antikorlar genellikle eritrositlere bağlanırlar (73,76). IMHA'lı köpeklerde tam kan sayımında saptanan bir diğer yaygın bulgu da sola kaymalı nötrofilik lökositozdur (77).

Primer ve sekonder IMHA'nın ayırımının yapılması tedavide oldukça önemlidir. Tedavide amaç, glukokortikoidlerin kullanılmasıyla kırmızı kan hücresi (RBC) antijenlerini hedef alan otoimmün yanıtları kontrol etmektir. İmmünyüpresyonu artırma, hastalığın başlangıç dönemlerinde daha hızlı kontrolüne imkan sağlama ve glukokortikoidlerin olası yan etkilerinden korunmak amacıyla, azatiyoprin, siklosporin ve mikofenolat mofetil dahil olmak üzere bir takım ilaçlar da IMHA'lı köpeklerin rutin tedavisine girmiştir. Bununla birlikte, ikincil IMHA, alta yatan neden ortadan kaldırılmadıkça tedaviye nadiren iyi yanıt verir ve hatta immünyüpresif tedavi ile daha da kötüleşebilir (78-80).

IMHA tanısına konulduktan sonra prednizolon veya prednizonun 2-3 mg/kg/gün olarak oral yolla kullanılması önerilmektedir. İlaç günlük tek doz olarak veya günlük doz ikiye bölünerek uygulanabilir. Hasta başlangıçtaki oral ilaç tedavisini tolere edemezse, deksametazon (0.2-0.4 mg/kg/gün) geçici süreyle damar içi yolla uygulanabilir. Azatiyoprin 2 mg/kg/gün olacak şekilde tedaviye başlanır, ilk haftadan sonra gün aşırı olacak şekilde 2 mg/kg dozunda kullanılır (azatiyoprin kedilerde kontrendikedir), mikofenolate günde iki kez, 8-10 mg/kg dozunda veya siklosporin 5-10 mg/kg/gün dozlarında olası ikinci ajanlar olarak tedavide kullanılırlar (81).

Köpeklerde IMHA tedavisinin ikinci önemli aşaması, morbidite ve mortalitenin belirgin bir nedeni olan trombozun, özellikle pulmoner tromboembolizmin önlenmesidir (82-83). Çeşitli tromboprolifaktik uygulamalar önerilmiştir, ancak bu tip vakalarda uygulanacak en uygun ilaç veya ilaçlar konusunda genel bir fikir birliği yoktur. Bu tarz sorun geliştiren köpeklerde heparin kullanılarak pıhtılaşma önlenmeli ve şayet trombosit sayısı $>40.000/\text{mL}$ ise antiplatelet tedavisi (aspirin 0,5 mg/kg/gün veya klopidogrel 1-2 mg/kg/gün) uygulanmalıdır. Köpeklerde klopidogrel kullanımının aspirinden daha etkili olduğunu da öne sürülmüştür (47).

Ayrıca, kan transfüzyonu, mide koruyucular ve antimikrobiyal ilaçlar gibi bir dizi destekleyici tedavi stratejisi, genellikle ne zaman ve nasıl kullanılmaları gerektiği konusunda net bir fikir birliği olmaksızın, vaka bazında uygulanmaktadır (84).

IMHA'de mortalite oranları, klinik belirtilerin ciddiyetine ve pıhtılaşma derecesine bağlı olarak %20-75 arasında değişir. Hematokrit değerinde hızlı bir düşüş, yüksek bilirubin konsantrasyonu, orta ila belirgin lökositoz (28.000 ila >40.000 hücre/mcL), artmış BUN, peteşiler, intravasküler hemoliz, otoaglutinasyon, yaygın intravasküler pıhtılaşma ve tromboembolik komplikasyonlar olumsuz prognostik göstergeler olarak kabul edilir (47).

2.7. İmmün Aracılı Poliartritis (Immune-Mediated Polyarthritis (IMPA))

İmmün aracılı eroziv olmayan poliartritis (IMPA), köpeklerde en sık görülen poliartiküler hastalık olup, bu durum sinoviyum içinde immün kompleks birikiminin bir sonucu olarak ortaya çıkmakta ve buna bağlı olarak ta steril bir sinovitis oluşmaktadır (85). Eroziv olmayan poliartritis durumu, üçüncü tip aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak kabul edilir. Kompleman sistemin aktivasyonu yoluyla, nötrofil ve makrofajları içeren yangısal hücreler yangı bölgesine alınır.

Sonuç olarak, bağışıklık komplekslerinin fagositozundan sonra doku yıkımına neden olan nitrik oksit, serbest radikaller ve proteazlar salınır (86).

İmmün aracılı eroziv olmayan poliartrit ırkla, sistemik lupus eritematozusla (SLE), uzak bir immünojenik uyarana (reaktif) sekonder ortaya çıkan yanıtta veya idiyopatik nedenli olarak karşımıza çıkabilir. Genetik temelli olarak karşımıza çıkan steril sinovitisin neden olduğu poliartritis olgularına Akita, Boxer, Weimaraner, Bernese dağ köpeği, Alman kısa tüylü pointer, Spaniel ve Beagle ırklarında rastlanmıştır (85,87). Bu köpeklerin bazılarında eş zamanlı meningeal yangı da gözlenebilir (88).

Klinik belirtiler değişken olup, yürümede isteksizlik, katılık, topallık, hareket ederken havlama ve eklemelerde şişme gibi bulguları içerebilir. Genellikle sistemik klinik belirtiler olmamakla beraber ateş, iştahsızlık, dermatit ve hemolitik anemi gibi multisistemik bulgularda gözlenebilir (89,90).

IMPA tanısı genellikle birçok eklemde septik olmayan nötrofilik inflamasyonun belirlenmesiyle birlikte sinoviyal eklem sıvısı analizlerine ve eklemlerin görüntülenmesi işlemine dayanır. IMPA tanısı olası eklem sorunlarına yol açabilecek nedenler ortadan kaldırıldıktan sonra düşünülmelidir (91).

Seçilen tedavi şekli ne olursa olsun, tedavide amaç hasarın hafifletilmesidir. Bu işlem sağlanamazsa, tedavideki amaç eklem yangısını mümkün olan en düşük düzeye getirmek, eklem hasarını en aza indirmek ve hastanın yaşam kalitesini artırmaktır. İdiyopatik nedenli tip II / IV IMPA, ilaca bağlı IMPA ve aşı ile ilişkili IMPA'nın tedavisi altta yatan nedenlerin belirlenmesine ve bunların tedavi edilmesine dayanır. Nedenin tam olarak belirlenememesi tekrarlayan veya kalıcı sorunlara neden olacaktır (90). Kortikosteroidler düşük tedavi maliyeti ve hızlı etkileri nedeniyle genellikle ilk tercih edilen ilaçlardır. İdiyopatik tip I IMPA'lı köpeklerin yaklaşık %80'i, immünosüpresif dozlarda prednizon uygulamasına yanıt verir (92) ancak bu köpeklerin yaklaşık yarısı, semptomların hafiflemesini sürdürmek için uzun süreli veya kombinasyon halinde ilaç tedavisi uygulamasına ihtiyaç duyar (89). Prednizon, hafifleme sağlanıncaya kadar, başlangıçta 2-4 mg/kg/gün olacak şekilde immünosüpresif dozlarda uygulanır. Hafifleme sağlandıktan sonra uzun bir süre boyunca, genellikle iki ila dört ay boyunca dozu kademeli olarak azaltılarak kullanılmaya devam edilir. Bir hastada klinik belirtileri kontrol etmek için uzun süreli prednizon alması gerekiyorsa, en düşük etkili dozu belirlenerek tercihen gün aşırı uygulama şeklinde kullanılmalıdır (89,90). Şayet doz azaltıldığında veya kesildiğinde klinik belirtiler tekrarlırsa, prednizon ilk dozda yeniden başlamalı veya tedaviye başka bir ilaç eklenmelidir. Ancak uzun süreli kortikosteroid

kullanımıyla ilişkili olarak iyatrojenik hiperadrenokortisizm, diabetes mellitus, idrar yolu enfeksiyonları, piyoderma, tendon ve bağlarda kollajenin parçalanması gibi yan etkilerin oluşabileceğide unutulmamalıdır (93,94). Prednizonun tek başına kullanımı etkisiz kalmışsa, iyi tolere edilemiyorsa veya prednizon tedavide tercih edilmiyorsa, o zaman prednizon ile birlikte ek bir sitotoksik ilaç kullanılır. Azatiyoprin ve siklofosamid, prednizon ile birlikte en sık kullanılan ilaçlardan olup, IMPA'lı hastalarda belirtileri hafiflettikleri gösterilmiştir (95,96). Azatiyoprinin, iki ila dört hafta boyunca günlük 2.2 mg/kg dozuyla tedaviye başlanır ve bu tedaviye iki günde bir antiinflamatuvar dozlarda (0.5-1 mg/kg) prednizon eş zamanlı olarak eklenir (97). Siklofosamid ile tedaviye, günde bir kez anti-inflamatuvar dozda prednizon ile eş zamanlı olacak şekilde, haftanın ilk dört günü boyunca 1.5 mg/kg (> 30 kg köpekler için), 2 mg/kg (15-30 kg köpekler için) veya 2.5 mg/kg (<15 kg köpekler için) dozunda başlanır. Her iki tedavi uygulamasına 2-4 ay devam edilir, bu süre zarfında hastada bulgular hafiflemişse azatiyoprin veya siklofosamid kademeli olarak kesilir (98). Azatiyoprinin yan etkileri arasında kemik iliği baskılanması ve hepatotoksikoz yer alırken, siklofosamidin yan etkileri arasında kemik iliği baskılanması ve hemorajik sistit bulunur. Hemorajik sistit potansiyeli nedeniyle, siklofosamid dört aydan uzun süre kullanılmamalıdır (99). Siklofosamid veya azatiyoprin tedavisiyle remisyon sağlanamıyorsa veya ilaçlar kesildikten sonra da devam etmiyorsa, sitotoksik ajan yerine levamisol, leflunomid veya siklosporin eklenebilir veya ikame edilebilir. İmmün modüle edici özelliklere sahip bir antelmintik olan levamisolün, SLE poliartritinin tedavisinde (100) ve tekrarlayan IMPA vakalarında etkili olduğu gösterilmiştir (101). Levamisolün tavsiye edilen dozu gün aşırı 2.2 mg/kg veya haftada üç kez 0.5-2 mg/kg şeklindedir. SLE'un tedavisinde levamisol iki günde bir 2-5 mg/kg (maksimum 150 mg/köpek) dozunda ve eş zamanlı olarak prednizonun 1-2 mg/kg/gün başlangıç dozu ile beraber uygulanması tavsiye edilmektedir. Yan etkileri yüksek dozlar kullanıldığında ortaya çıkabilir ve bu etkiler arasında uyuşukluk, kusma, ishal, hemolitik anemi ve kutanöz ilaç döküntüsü gibi bulgular yer alabilir (94). Son zamanlarda IMPA'lı köpeklerin tedavisinde, özellikle daha önceden poliartrit için herhangi bir ilaç tedavisi uygulanmayan veya prednizon tedavisi almasına rağmen nüks oluşan köpeklerde Leflunomid kullanımı değerlendirilmiştir. Leflunomidin 3-4 mg/kg dozunda kullanılmasının güvenli olduğu ve iyi tolere edildiği görülmüştür (102). Siklosporin, çeşitli immün aracılı durumların tedavisinde kullanım için uygun olmakla beraber, IMPA tedavisinde tek ajan olarak kullanıldığında etkisiz olduğu ifade edilmiştir (92).

Bir hastanın tedaviye verdiği yanıt, klinik belirtiler ve tekrarlanan sinoviyal sıvı analizleriyle değerlendirilmelidir. İlaçların dozunun zamanından önce azaltılması veya kesilmesi klinik belirtilerin şiddetlenmesine neden olabilir. Ayrıca uzun süreli olarak hastalık bulgularının hafifletilmesini zorlaştırabilir. Klinik belirtilerin yokluğunda bile sinovyal yangı devam ediyor olabilir. İdeal olarak, ilaç dozunda azaltmaya gitmeden önce özellikle de ilk ilaç azaltımından önce artrosentez yapılması önemlidir (103).

2.8. Yangısal Bağırsak Hastalığı (Inflammatory Bowel Disease (IBD))

Köpeklerde inflamatuvar barsak hastalığı (IBD), ince ve kalın bağırsağın mukozasındaki, özellikle mukozanın lamina propriasında hücresel infiltrasyon şeklinde, histopatolojik değişikliklerle ilişkili, etiyojisi bilinmeyen, kalıcı veya tekrarlayan gastrik semptomlarla karakterize bir grup kronik enteropatidir. IBD'nin sınıflandırılması, bağırsak mukozasının lamina propriyasındaki baskın enflamatuvar hücre tipi ile belirlenir (104,105). IBD'nin patogenezi tam olarak açıklanamamış olmakla beraber köpeklerde hastalığın oluşumunda bakteriyel ve çevresel faktörler, belirli ırkların genetik yatkınlıkları, alerjenler ve bazı ilaçların yan etkilerinin etkili olduğu ifade edilmektedir (106). Son zamanlarda ise hastalığın patogenezinde gastrointestinal sistemin kronik yangısına yol açan endojen mikroflora, gıda antijenleri veya endojen antijenlere karşı tolerans kaybının etkili olduğu ifade edilmiştir (107,108).

Köpeklerde IBD gelişiminin, predispoze hayvanlarda mukozal bağışıklığın zayıflamasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (109). Hastalığın immün aracılı olduğu sonucuna immünomodülant ilaçların uygulanmasına alınan yanıtta ulaşılabilir. Sağlıklı köpeklere kıyasla hastalıklı köpeklerde artan IgE pozitif hücrelerin varlığı, köpeklerde IBD'nin patogenezinde aşırı duyarlılık reaksiyonlarının rol oynadığını düşündüren başka bir bulgudur (110). Köpeklerde IBD'nin klinik belirtileri çok sayıda ve spesifik olmayıp, en yaygın klinik belirtiler arasında sıklıkla asites (hipoalbuminemi varsa) veya mukoz membranların solgunluğu (kronik gastrointestinal kanama durumunda) gibi komplikasyonlarla ilişkili (111) olan kilo kaybı, sürekli veya tekrarlayan kusma ve/veya ishal yer almaktadır (112). IBD teşhisinde, sıklıkla radyolojik (X-R), ultrasonografik (US) ve endoskopik yöntemlerden yararlanır. Özellikle endoskopi işlemi, mukozal infiltrasyonun çeşitli alt tiplerini ayırt etmek için gerekli olan biyopsi örneklemelerine izin verdiği için çok daha önemlidir (113). Diğer olası kronik ishal nedenleri elimine edilmeli ve bazı laboratuvar testleri uygulanmalıdır.

Genel olarak, IBD'li köpeklerin tedavisinde ilk yaklaşım, birtakım diyet düzenlemelerini, prebiyotiklerin, probiyotiklerin (114), antibiyotiklerin ve sonunda kortikosteroidlerin (prednizolon veya budesonid) kullanımını içermektedir. Metronidazol, eşzamanlı antimikrobiyal ve immünomodülatör etkisi nedeniyle tedavide önemli bir terapötik ajanı olarak tercih edilebilir (115). Azatiyoprin, siklosporin, klorambusil, siklofosfamid ve 5-aminosalisilatlar gibi diğer immünomodülatör veya antiinflamatuvar ilaçlar, steroidlerle birlikte veya onlara alternatif olarak kullanılabilirler. Tedaviye mide koruyucuları, antiemetikler ve motilite modülatörleri gibi destekleyici ajanların eklenmesi ve hastalık esnasında gelişmesi muhtemel vitamin ve elektrolit kaybı gibi herhangi bir düzensizliğin düzeltilmesi de önemlidir (115,116).

2.9. Myastenia Gravis (MG)

Myastenia Gravis, kaslarda güçsüzlük ve yorgunluk ile karakterize, edinsel ve konjenital olarak saptanabilen, nöromusküler kavşaklarda fonksiyonel asetilkolin reseptörlerinin sayısının azalması nedeniyle ortaya çıkan bir hastalıktır (117). Konjenital MG, iskelet kaslarının nöromusküler kavşağında bulunan nikotinik asetilkolin reseptörünün eksikliği veya fonksiyonel bozukluğundan kaynaklanırken, edinsel MG, asetilkolin reseptörlerine karşı oto antikoların üretildiği, immün aracılı bir hastalıktır (118-120). Edinsel MG'de otoantikoların oluşum nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte timusun rol oynayabileceği öne sürülmüştür (118). Klinik bulgu olarak birçok hastada disfaji, salivasyon ve megaözofagus gibi klinik belirtiler yanında aspirasyon pnömonisine neden olabilecek regurgitasyonun görülebileceği bildirilmiştir (121). Akut MG, ani başlangıçlı megaözofagus ve günler içinde sırt üstü yatmaya neden olan genel kas güçsüzlüğü ile karakterizedir (122,123). Yemek borusu büyük ölçüde iskelet kaslarından oluştuğu için MG'li köpeklerde megaözofagus yaygın bir bulgudur (124).

MG'nin teşhisi, hastanın kolinesteraz etkili ilaçlara karşı verdiği yanıt yanında serumda antikolinesteraz antikolarının varlığı ile konulabilmektedir. Köpeklerde MG tedavisinde esas olarak kolinesterazlar ve immünosüpresif ilaçlar kullanılmaktadır (125).

MG uzun süreli kombinasyon tedavisi gerektirir ve kolinesteraz inhibitörü ilaçlar, köpeklerde MG tedavisinde kullanılan başlıca ajanlardır (126,127). Antikolinesteraz etkili ilaçlar, asetil kolinin nöromusküler kavşakta enzimatik hidrolizini inhibe ederek, sinir ucundan salınan asetil kolinin, asetil kolin reseptörleriyle etkileşimini uzatır, böylece sinaptik kavşakta asetil kolinin etkili

konsantrasyonunu ve etki süresini arttırırlar (128). Tedavide antikolinesterazların 6 hafta ile 6 yıl arasında kullandıkları bildirmesine rağmen (126,129), bir çalışmada piridostigmin bromür ile tedavinin sadece bir ay sürdüğü vurgulanmıştır (130). Edinsel MG tedavisinde, asetilkolin reseptörlerine karşı anormal bağışıklık tepkisini azaltma etkilerinden dolayı kortikosteroidlerin yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir (131,132). Bununla birlikte, bazı hastalarda metilprednizolon tedavisinden sonra klinik belirtilerde ilk zamanlarda kötüleşme olduğuda bildirilmiştir. Neostigmin bromür tedavisiyle ilişkili temel sorun, yan etki olarak kolinerjik reaksiyonların gelişmesidir. Bunu önlemek için neostigminin hesaplanan miktarı 4-5 doza bölünerek daha düşük doz oranlarında kullanılabilir (133).

Splenektomi, bazı durumlarda hayvanlarda son çare olarak düşünülmelidir. Bu yöntem özellikle tek başına tek veya kombinasyon ilaç tedavisi ile tatmin edici bir remisyon elde edilemediğinde, bir hayvan remisyonun sürdürülmesi için gereken kronik ilaç tedavisine karşı toksisite gösterdiğinde ve ya ilaçların tamamen ortadan kaldırılması ya da dozlarının düşürülmesi gerektiğinde tercih edilebilir. Köpeklerde splenektomi için karışık sonuçlar tarif edilmiş olup, IHA ve ITP sendromunda, splenektominin 8/9 köpekte immünosupresif ilaçlara olan ihtiyacı azalttığı, ancak ortadan kaldırmadığı bulunmuştur (134). ITP'li köpeklerle yapılan başka bir çalışmada, tekrarlayan ve tıbbi olarak kontrol altına alınması zor hastalığı olan 4/5 köpeğin, splenektomiden sonra tüm ilaçları bıraktığı tespit edilmiştir (135).

Kaynaklar

1. Bennett D. Autoimmune disease in the dog, In Pract. 1984; 6(3):74-86.
2. Niels CP. A review of immunologic diseases of the dog. Vet Immunol Immunopathol.1999; 69: 251-342.
3. Coombs RRA, Gell PGH. Classification of allergic reactions for clinical hypersensitivity and disease. In: Gell, P.G.H., Coombs, R.R.A., Lachmann, P.J. (Eds.), Clinical Aspects of Immunology, Oxford, Blackwell Scientific, 761-781, 1975.
4. Scott-Moncrieff JC. Clinical signs and concurrent diseases of hypothyroidism in dogs and cats, Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2007; 37(4):709-722.
5. Bonnie VB, Lore IH. Canine behaviors associated with hypothyroidism, J Am Anim Hosp Assoc. 2003; 39(5): 431-434.

6. Mooney CT. Canine hypothyroidism: a review of aetiology and diagnosis, *N Z Vet J.* 2011; 59(3): 105-114.
7. Kooistra HS, Voorhout G, Mol JA, Rijnberk A. Combined pituitary hormone deficiency in German shepherd dogs with dwarfism. *Dom Anim Endocrinol.* 2000b; 19: 177-190.
8. Dixon RM, Reid SWJ, Mooney CT. Treatment and therapeutic monitoring of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract.* 2006; 43(8): 334-340.
9. Lewis VA, Morrow CMK, Jacobsen JA, Eugene WL. A pivotal field study to support the registration of levothyroxine sodium tablets for canine hypothyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2018; 54(4):201-208.
10. Nachreimer RF, Refsal KR. Radioimmunoassay monitoring of thyroid hormone concentrations in dogs on thyroid replacement therapy: 2,674 cases (1985-1987). *J Am Vet Med Assoc* 1992; 201(4):623-629.
11. Dixon RM, Reid SWJ, Mooney CT. Treatment and therapeutic monitoring of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract.* 2006; 43(8): 334-340.
12. Scott DW, Walton DK, Manning TO, Smith CA. Canine lupus erythematosus. II. Discoid lupus erythematosus, *J Am Anim Hosp Assoc.* 1987; 19(4): 481-488.
13. Marks SL, Henry CJ. In: Bonagura JD editor. *Kirk's current veterinary therapy XIII: small animal practice 13rd edition.* Philadelphia: Saunders, 2000.
14. Banovic F, Linder KE, Uri M, Rossi MA, Olivry T. Clinical and microscopic features of generalized discoid lupus erythematosus in dogs (10 cases). *Vet Dermatol.* 2016; 27(6): 488.
15. Moon-Jung G, Jin-Kyu P, Il-Hwa H, Hai-Jie Y, Dong-Wei Y, Mi-Ran K, Jung-Youn H, Ae-Ri J, Tae-Hwan K, Bruce HW, Kyu-Shik J. Discoid lupus erythematosus (DLE) in a Spitz dog, *J Vet Med Sci.* 2008; 70(6): 633-635.
16. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. In: *Small Animal Dermatology,* Saunders, Philadelphia. 584-588: 1995.
17. Oberkirchner U, Linder KE, Olivry T. Successful treatment of a novel generalized variant of canine discoid upus erythematosus with oral hydroxychloroquine. *Vet Dermatol.* 2012; 23(1): 65-70.
18. Simpson K, Chapman P, Klag A. Long-term outcome of primary immune-mediated thrombocytopenia in dogs. *J Small Anim Pract.* 2018; 59(11): 674-680.

19. Botsch V, Kuchenhoff H, Hartmann K, Hirschberger J. Retrospective study of 871 dogs with thrombocytopenia. *Vet Rec.* 2009; 164: 647-665.

20. Scott MA, Kaiser L, Davis JM, Kenneth AS. Development of a sensitive immunoradiometric assay for detection of platelet surface-associated immuno-globulins in thrombocytopenic dogs. *Am J Vet Res.* 2001; 63: 124-136.

21. O'Marra SK, Delaforcade A M, Shaw SP. Treatment and predictors of outcome in dogs with immune-mediated thrombocytopenia. *J Am Vet MedAssoc.* 2011; 238: 346-352.

22. Balog K, Huang AA, Sum SO, Moore GE, Thompson C, Scott-Moncrieff JC. A prospective randomized Clinical trial of vincristine versus human intravenous immunoglobulin for acute adjunctive Management of Presumptive Primary Immune-Mediated Thrombocytopenia in dogs. *J Vet Int Med.* 2013; 27: 536-541.

23. Cummings FO, Rizzo SA. Treatment of presumptive primary immune-mediated thrombocytopenia with mycophenolate mofetil versus cyclosporine in dogs. *J Small Anim Pract.* 2017; 58: 96-102.

24. Murrell DF, Peña S, Joly P, Marinovic B, Hashimoto T, Diaz LA, Sinha AA, Payne AS, Daneshpazhooh M, Eming R, et al. Diagnosis and management of pemphigus: recommendations of an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol.* 2020; 82(3): 575-585.

25. Sams WM, Gammon WR. Mechanism of lesion production in pemphigus and pemphigoid. *J Am Acad Derm.* 1982; 6: 431-449.

26. Muller GH, Kirk RW, Scott OW. Immunologic diseases. In: *Small Animal Dermatology*, Philadelphia: WB Saunders Co. 150-243, 427-574. 1989.

27. Bizikova P, Linder KE, Olivry T. Immunomapping of desmosomal and nondesmosomal adhesion molecules in healthy canine footpad, haired skin and buccal mucosal epithelia: comparison with canine pemphigus foliaceus serum immunoglobulin G staining patterns. *Vet Dermatol.* 2011; 22(2): 132-142.

28. Spindler V, Waschke J. Pemphigus - a disease of desmosome dysfunction caused by multiple mechanisms. *Front Immunol.* 2018; 9: 1-8.

29. Scott OW, Manning TO, Smith CA, Lewis RM. Pemphigus vulgaris without mucosal or mucocutaneous involvement in two dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1982; 401-404.

30. Scott OW. Pemphigus in domestic animals. *Clin Derm.* 1983; 1: 141-152

31. Schultz KT, Goldschmidt M. Pemphigus vegetans in a dog: a case report. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1980; 16: 579-582.

32. Ralf SM, Ingar K, Helen TP, Kathryn VF. Pemphigus foliaceus in 91 dogs, *J Am Anim Hosp Assoc.* 2006; 42(3): 189-196.
33. Bizikova P, Burrows A. Feline pemphigus foliaceus: original case series and a comprehensive literature review. *BMC Vet Res.* 2019; 15(1): 1-15.
34. Bizikova P, Linder KE, Olivry T. Immunomapping of desmosomal and nondesmosomal adhesion molecules in healthy canine footpad, haired skin and buccal mucosal epithelia: comparison with canine pemphigus foliaceus serum immunoglobulin G staining patterns. *Vet Dermatol.* 2011; 22(2): 132-142.
35. Tham HL, Linder KE, Olivry T. Deep pemphigus (pemphigus vulgaris, pemphigus vegetans and paraneoplastic pemphigus) in dogs, cats and horses: a comprehensive review. *BMC Vet Res.* 2020; 16(1): 1-25.
36. Scott DW, Miller, WH, Griffin CE. Immunologic Skin Diseases. In Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 500-518, 1995.
37. Mueller RS, Krebs I, Power HT, Fieseler KV. Pemphigus foliaceus in 91 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2006; 42(3): 189-196.
38. Olivry T. A review of autoimmune skin diseases in domestic animals: I – superficial pemphigus. *Vet Dermatol.* 2006; 17(5): 291-305.
39. Wurm S, Mattise AW, Dunstan RW. Comparative pathology of pemphigus in dogs and humans. *Clin Dermatol.* 1994; 12: 515-24.
40. Rosenkrantz WS. Pemphigus: current therapy. *Vet Dermatol.* 2004; 15(2): 90-98.
41. Verheijen F, Coert A, Deckers, GH. Adrenocortical suppression in dogs and rats after topical administration of betamethasone-17-valerate and resocortol butyrate. In: Kwochka, K.K., ed. *Advances in Veterinary Dermatology III.* Boston: Butterworth-Heinemann, 481-482, 1998.
42. Werth VP, Lazarus GS. Systemic glucocorticoids. In: Freedberg, I.M., Eisen, A.Z., Wolff, K. et al., eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine V.* New York: McGraw-Hill, 2783-2789, 1999.
43. Wayne SR. Pemphigus: current therapy, *Vet Dermatol.* 2004; 15: 90-98.
44. Rosenkrantz, WS. Pemphigus foliaceus. In: Griffin, C.E., Kwochka, K.W., MacDonald, J.M., eds. *Current Veterinary Dermatology.* St. Louis, MO: Mosby, 141-148, 1993.
45. Susan CK, Mark EP. Canine hypoadrenocorticism: Part I, *Can Vet J.* 2010; 51(1): 63-69;
46. Susan CK, Mark EP. Canine hypoadrenocorticism: Part II, *Can Vet J.* 2010; 51(2): 179-184.

47. Aiello SE. The Merck Veterinary Manual. 8th Edition, Whitehouse Station, N.J., USA, Merck&Co Inc, 1998.

48. Kintzer PP, Peterson MA. Primary and secondary hypoadrenocorticism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997; 27: 349–357.

49. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology.* 10th ed. St. Louis, WB Saunders 869–883, 2000.

50. Di Bartola SP, Autran de Morais H. Disorders of potassium: Hypokalemia and hyperkalemia. In: DiBartola SP, ed. *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders.* 3rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 91–121, 2006.

51. Greco DS. Hypoadrenocorticism. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2007; 22: 32-35.

52. David B. Addison Disease (Hypoadrenocorticism), *MSD Vet Manual.* 2019.

53. Reusch CE. Hypoadrenocorticism. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 5th ed. Philadelphia, WB Saunders, 1488-1499, 2000.

54. Tilley LP. *Essentials of Canine and Feline Electrocardiography.* 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 182–183, 1992.

55. Panciera DL. Fluid therapy in endocrine and metabolic disorders. In: DiBartola SP, ed. *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders.* 3rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 478–489, 2006.

56. Weiser MG: Erythrocyte responses and disorders, in Ettinger SJ, Feldman EC (eds): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, ed 4. St Louis, Saunders, 1864-1891, 1995.

57. Jain NC. Hemolytic anemia of noninfectious origin, in Schalm's *Veterinary Hematology.* Philadelphia, Lea & Febiger, 647–651, 1986.

58. Barker RN, Elson CJ. Red blood cell glycoporphins as B- and T-cell antigens in canine autoimmune hemolytic anemia. *Vet Immunol Immunopathol.* 1995; 47(3-4): 225–238.

59. Stewart A, Feldman B. Immune-mediated hemolytic anemia, part I: An overview. *Compend Contin Educ Pract Vet* 15(3):372–381, 1993; Cotter SM: *Hematology.* Jackson, WY, Teton NewMedia, 497–595, 2001.

60. Carr AP, Panciera DL, Kidd L. Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective study of 72 dogs. *J Vet Intern Med.* 2002; 16: 504-509.

61. Giger U. Regenerative anemias caused by blood loss or hemolysis, in Ettinger SJ, Feldman EC (eds): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, ed 6. St Louis, Saunders, 1886–1907, 2005.

62. Trepanier LA. Idiosyncratic toxicity associated with potentiated sulfonamides in the dog. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004; 27(3): 129-138.

63. Schwartz RS, Berkman EM, Silberstein LE. Autoimmune hemolytic anemias, in Hoffman R, Benz EJ Jr, Shattil SJ, et al (eds): *Hematology: Basic Principles and Practice*, ed 3. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2000.

64. Miller SA, Hohenhaus AE, Hale AS. Case-control study of blood type, breed, sex, and bacteremia in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J Am Vet Med Assoc.* 2004; 224: 232-235.

65. Jackson ML, Kruth SA. Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in the dog: A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1969 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. *Can Vet J.* 1985; 26: 245-250.

66. Cotter SM. *Hematology*. Jackson, WY, Teton New Media, 497–595, 2001.

67. Weinkle TK, Center SA, Randolph JF, Warner KL, Barr SC, Erb HN. Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 151 cases (1993-2002). *J Am Vet Med Assoc.* 2005; 226: 1869-1880.

68. Reimer ME, Troy GC, Warnick LD. Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988–1996). *J Am Anim Hosp Assoc.* 1999; 35: 384–391.

69. Mischke R. Haemostasestoerungen als Komplikation der autoimmunhaemolytischen Anaemie beim Hund. *DtschTieraerztl Wschr.* 1998; 105: 13–16.

70. Goggs R, Boag AK, Chan DL. Concurrent immune-mediated haemolytic anaemia and severe thrombocytopenia in 21 dogs. *Vet Rec.* 2008; 163: 323-327.

71. Jain NC. Hemolytic anemia of noninfectious origin, in Schalm's *Veterinary Hematology*. Philadelphia, Lea & Febiger, 647–651, 1986.

72. Andrea B, Andrew M. Canine Immune-Mediated Hemolytic Anemia: Pathophysiology, Clinical Signs, and Diagnosis. *COMPENDIUM.* 2007; 217-225.

73. Klag A, Giger U, Shofer F. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986–1990). *J Am Vet Med Assoc.* 1993; 202(5): 783–788,

74. Day MJ. Immune-mediated hemolytic anemia, in Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC (eds): Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 799-806, 2000.

75. Kellerman DL. Heparin therapy: What we do and don't know. Proc ACVIM. 1998; 16: 438-439.

76. Scott-Moncrieff JC, Treadwell NG, McCullough SM, Brooks MB. Hemostatic abnormalities in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. J Am Anim Hosp Assoc. 2001; 37(3): 220-227.

77. McManus P, Craig L. Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune mediated hemolytic anemia: 34 cases (1994-1999). J Am Anim Hosp Assoc. 2001; 218(8): 1308-1313.

78. Piek CJ, van Spil WE, Junius G, Dekker A. Lack of evidence of a beneficial effect of azathioprine in dogs treated with prednisolone for idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective cohort study. BMC Vet Res. 2011; 7: 15.

79. Wang A, Smith JR, Creevy KE. Treatment of canine idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia with mycophenolate mofetil and glucocorticoids: 30 cases (2007 to 2011). J Small Anim Pract. 2013; 54: 399-404.

80. Wann JW, Skelly BJ. Evaluation of immunosuppressive regimens for immune-mediated haemolytic anaemia: a retrospective study of 42 dogs. J Small Anim Pract. 2011; 52: 353-358.

81. James WS, Oliver AG, Claire LF, Barbara G, Robert G, Dana NLV, Andrew J, Nathaniel TW. ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs J Vet Intern Med. 2019; 33(3): 1141-1172.

82. LaRue MJ, Murtaugh RJ: Pulmonary thromboembolism in dogs: 47 cases (1986-1987). J Am Vet Med Assoc. 1990; 197: 1368-1372.

83. Klein MK, Dow SW, Rosychuk RA. Pulmonary thromboembolism associated with immune-mediated hemolytic anemia in dogs: ten cases (1982-1987). J Am Vet Med Assoc. 1989; 195: 246-250.

84. James WS, Oliver AG, Claire LF, Barbara G, Robert G, Dana NLV, Andrew J, Nathaniel T W. ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. J Vet Intern Med. 2019; 33(3): 1141-1172.

85. Taylor SM. Disorders of the joints. In: Nelson RW, Couto CG, eds. Small Animal Internal Medicine. 2nd ed. Philadelphia: Mosby, 1076-108, 1998.

86. Jacques D, Cauzinille L, Bouvy B, Dupre G. A retrospective study of 40 dogs with polyarthritis, *Vet Surg.* 2002; 31(5): 428-434.

87. Dougherty SA, Center SA, Shaw EE, Erb HA. Juvenile-onset polyarthritis syndrome in Akitas. *J Am Vet Med Assoc.* 1991; 198: 849–856.

88. Webb AA, Taylor SM, Muir GD. Steroid-responsive meningitis-arteritis in dogs with noninfectious, nonerosive, idiopathic, immune-mediated polyarthritis. *J Vet Intern Med.* 2002; 16: 269–273.

89. Michels GM, Carr AP. Noninfectious nonerosive arthritis in dogs. *Vet Med.* 1997; 92: 798–803.

90. Bennett D. Treatment of the immune-based inflammatory arthropathies of the dog and cat. In: Bonagura JD, ed. *Kirk's Current Veterinary Therapy XII Small Animal Practice.* Philadelphia: WB Saunders, 1188-1196, 1995.

91. Stone, M. Immune mediated polyarthritis and other polyarthropathies. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 8th edn. Eds S. J. Ettinger, E. C. Feldman and E. Cote. Elsevier, St. Louis, Missouri, USA. 861-866, 2017.

92. Clements DN, Gear RN, Tattersall J, Stuart C, Bennett D. Type I immune-mediated polyarthritis in dogs: 39 cases (1997-2002). *J Am Vet Med Assoc.* 2004; 224(8): 1323-1327.

93. Calvert CA, Greene CE. Bacteremia in dogs: Diagnosis, treatment, and prognosis. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1986; 8: 179–186.

94. Day M. Immunomodulatory therapy. In: Maddison JE, Page SW, Church DB, eds. *Small animal clinical pharmacology.* St. Louis, Mo: Saunders Elsevier, 270-286. 2008.

95. Bennet D. Immune-based non-erosive inflammatory joint disease of the dog. D. Canine idiopathic polyarthritis. *J Small Anim Pract.* 1987; 28: 909-928.

96. Michels GM, Carr AP. Treating immune-mediated arthritis in dogs and cats. *Vet Med.* 1997; 92(9): 811-814.

97. Taylor S. Disorders of joints. In: Nelson RW, Couto CG, eds. *Small animal medicine.* 4th ed. St. Louis, Mo: Mosby Elsevier, 1127-1140, 2009.

98. Pedersen NC, Morgan JP, Vasseur PB. Joint disease of dogs and cats. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine.* 5th ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1862-1886, 2000.

99. Marks SL, Henry CJ. CVT. Update: Diagnosis and treatment of systemic lupus erythematosus. In: Bonagura JD, editor. *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII Small Animal Practice.* Philadelphia: WB Saunders; 514–516, 2000.

100. Fournel C, Chabanne, L, Caux C, Faure JR, Rigal D, Magnol JP, Monier JC. Canine systemic lupus erythematosus. I: A study of 75 cases. *Lupus*. 1992; 1(3):133-139.

101. Bennett D. Immune-mediated and infective arthritis. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine*. 7th ed. St. Louis, Mo: Saunders Elsevier, 743-749, 2010.

102. Colopy SA, Baker TA, Muir P. Efficacy of leflunomide for treatment of immune-mediated polyarthritis in dogs: 14 cases (2006-2008). *J Am Vet Med Assoc*. 2010; 236(3): 312-318.

103. Pedersen NC, Morgan JP, Vasseur PB. Joint disease of dogs and cats. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine*. 5th ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1862-1886, 2000.

104. Garcia-Sancho M, Rodriguez-Franco F, Sainz A, Mancho C, Rodriguez A. Evaluation of Clinical, Macroscopic, and Histopathologic Response to Treatment in Nonhypoproteinemic Dogs with Lymphocytic-Plasmacytic Enteritis. *J Vet Intern Med*. 2007; 21: 11-17.

105. Day MJ, Blizer T, Mansell J, Wilcock B, Hall EJ, Jergens A, Minami T, Willard M, Washabau R. Histopathological Standards for the Diagnosis of Gastrointestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Samples from the Dog and Cat: A Report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *J Comp Pathol*. 2008; 138: 1-43.

106. Bhatia V, Tandon RK. Stress and the gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005; 20: 332-339.

107. German AJ, Helps CR, Hall EJ, Day MJ. Cytokine mRNA Expression in Mucosal Biopsies from German Shepherd Dogs with Small Intestinal Enteropathies. *Dig Dis Sci*. 2000; 45: 7-17.

108. Allenspach K, Wieland B, Grone A, Gaschen F. Chronic Enteropathies in Dogs: Evaluation of Risk Factors for Negative Outcome. *J Vet Intern Med*. 2007; 21: 700-708.

109. Jergens AE, Zoran DL. Diseases of the colon and rectum. In: Hall EJ, Simpson JW, Williams DA, editors. *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology*, 2nd edition. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 203-212, 2005.

110. Locher C, Tipold A, Welle M, Busato A, Zurbriggen A, Griot-Wenk ME. Quantitative assessment of mast cells and expression of IgE protein and mRNA for IgE and interleukin 4 in the gastrointestinal tract of healthy dogs and dogs with inflammatory bowel disease. *Am J Vet Res*. 2001; 62: 211-216.

111. Sturgess K. Diagnosis and management of idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats. *In Pract.* 2005; 27: 291-301.

112. Kleinschmidt S, Meneses F, Nolte I, Hewicker-Trautwein M. Characterization of mast cell numbers and subtypes in biopsies from the gastrointestinal tract of dogs with lymphocyticplasmacytic or eosinophilic gastroenterocolitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2007; 120: 80-92.

113. Rychlik A, Nieradka R, Kander M, Depta A, Nowicki M, Sarti K. Usefulness of endoscopic examination for the diagnosis of inflammatory bowel disease in the dog. *Pol J Vet Sci.* 2007; 10: 113-118.

114. German AJ, Hall EJ, Day MJ. Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs. *J Vet Intern Med.* 2003; 17: 8-20.

115. Sturgess K. Diagnosis and management of idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats. *In Pract.* 2005; 27: 291-301.

116. Craven M, Simpson JW, Ridyard AE, Chandler ML. Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995-2002). *J Small Anim Pract.* 2004; 45: 336-342.

117. Shelton, G.D. Canine myasthenia gravis. In: R.W. Kirk: *Current Veterinary Therapy*, - XIth Ed., W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1039-1042, 1995.

118. Cuddon PA. Acquired immune-mediated myasthenia gravis in a cat. *J Small Anim Pract.* 1989; 30: 511-516.

119. Dewey CW, Bailey CS, Shelton GD, Kass PH, Cardinet GH. Clinical forms of acquired myasthenia gravis in dogs: 25 cases (1988–1995). *J Vet Int Med.* 1997; 11: 50-57.

120. Stenner V, Parry B, Holloway S. Acquired myasthenia gravis associated with a non-invasive thymic carcinoma in a dog. *Aust Vet J.* 2003; 81: 543-546.

121. Cuddon PA. Acquired immune-mediated myasthenia gravis in a cat. *J Small Anim Pract.* 1989; 30: 511-516.

122. Pedroia V. Disorders of the skeletal muscles. In: S.J. Ettinger: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 3 rd Ed., W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 733-744, 1989.

123. King L, Vite C. Acute fulminating myasthenia gravis in five dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1998; 212: 830-834.

124. Wray J, Sparkes A. Use of radiographic measurements in distinguishing myasthenia gravis from other causes of canine megaesophagus. *J Small Anim Pract.* 2006; 47: 256-263.

125. Hopkins AI. Canine myasthenia gravis. *J Small Anim Pract.* 1992; 33: 477-484.

126. Schütt I, Kersten U. Myasthenia gravis course of the disease in 23 dogs. *Kleintierpraxis.* 1986; 31: 121-126.

127. Engel AG, Shen XM, Selcen D, Sine SM. Congenital Myasthenic syndromes: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Lancet Neurol.* 2015; 14: 420-434.

128. Cristina F, Raluca MT, Alexandru GN, Tudor N, Constantin V. Diagnosis and Treatment of Acquired Myasthenia Gravis in An American Staffordshire Terrier Dog. *Scientific Works. Series C. Vet Med.* 2021; LXVII (1): 63-67.

129. Klebanow ER. Thymoma and acquired myasthenia gravis in the dog: A case report and review of 13 additional cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1992; 28: 63-69.

130. Hasan B, Fikriye S, Engin K, Zeki Y. Myasthenia Gravis in a Dog, *Tr J Vet Anim Sci.* 1998; 22: 427-430.

131. Cuddon A. Acquired immune-mediated myasthenia gravis in a cat. *J Small Anim Pract.* 1989; 30: 511-516.

132. Pedroia V. Disorders of the skeletal muscles. In: S.J. Ettinger: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 3 rd Ed., W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 733-744, 1989.

133. Arsura E, Brunner NG, Namba T, Grob D. High-dose intravenous methylprednisolone in myasthenia gravis. *Arch Neurology.* 1985; 42: 1149-1153.

134. Feldman BF, Handagama P, Lubberink AA. Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *J Am Vet Med Assn.* 1985; 187: 617-619.

135. Jans HE, Armstrong PJ, Price GS. Therapy of immune mediated thrombocytopenia: a retrospective study of 15 dogs. *J Vet Int Med.* 1990; 4: 4-7.

BÖLÜM IV

STOMATİTİSLİ KEDİ VE KÖPEKLERDE DÜŞÜK ENERJİLİ LAZER TERAPİSİ

Low Level Laser Therapy in Cats and Dogs with Stomatitis

Sıtkıcan OKUR

*(Dr. Öğr. Üyesi), Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye
e-mail: sitkican.okur@atauni.edu.tr
ORCID: 0000-0003-2620-897X*

1. Giriş

Lazer terapisi Veteriner hekimliğinde çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılan ve hızla yayılan bir yöntem haline gelmektedir. Lazerler uzun yıllardır kullanılmasına rağmen sağlık alanında lazer terapisinin kullanımı son 10 yılda oldukça yaygınlaşmıştır. Son yıllardaki lazer terapisinin yaygınlaşmasındaki temel sebepler; veteriner rehabilitasyon ve fizik tedavi hizmetlerinde artan farkındalık, lazer terapisi hakkında eğitim ve kaynakların artması ve yapılan çalışmalar sonucunda ortaya çıkan tutarlı klinik sonuçlara bağlı yeni protokollerin geliştirilmesidir. Bunların yanı sıra, lazer terapisinin invaziv olmayan, ilaçsız bir tedavi seçeneği sunduğu için, hem klinisyenler hem de hasta sahipleri için oldukça tercih edilen bir yöntem haline gelmesinde büyük katkı sunmuştur. (46)

Lazer “radyasyon emisyonu ile uyarılan ışık Amplifikasyonu” olarak kısaltılan, (39) radyasyon ışığının uyarılıp güçlendirilmesiyle açığa çıkan ışık kaynağı olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca lazer ışığı atom veya molekülde bulunan fazla enerjinin depolanması ve uyarılmasıyla elde edilir. Tek renkli ve doğrusal olmasının yanı sıra ışığı oluşturan fotonların aynı fazda olması diğer ışık kaynaklarından farklı olmasını sağlar. Fotonların aynı fazda olması hücresel düzeyde biyostimülasyon mekanizmasının uyarılmasını tetiklemektedir. (7) Lazer terapisinin etki mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte,

mitokondride enerji (adenozin trifosfat) üretimine yol açan sitokrom oksidazın foton aktivasyonu yoluyla hücresel süreçleri uyarabildiği, ardından hücresel onarımında yer alan proteinlerin sentezine yol açtığı ve ayrıca hücresel büyümeyi, farklılaşmayı ve prostoglandin sentezini uyardığı düşünülmektedir. (16,30,42)

Düşük enerjili lazer terapisi (LLLT), doku rejenerasyonunu desteklemek, inflamasyonu azaltmak ve ağrıyı hafifletmek için lazer ışığının biyolojik bir sisteme uygulanmasıdır. (18) Diğer lazer prosedürlerinin aksine, LLLT uygulamasının termal bir mekanizması yoktur, bunun yerine ışığın emildiği ve kimyasal bir değişikliğe neden olduğu anlamına gelen fotokimyasal bir etkisi vardır. (26) Terapinin düşük enerjili olarak adlandırılmasının temel nedeni, verilen optimum enerji yoğunluğunun düşük olması ve ablasyon, kesme ve termal doku pıhtılaşması için uygulanan diğer lazer yöntemlerinden farklı olmasıdır. (23)

Etkin bir LLLT prosedürü birçok tedavi parametresine bağlıdır. (1,4,26) Bunlar dalga boyu, dozun boyutu, uygulama süresi, güç yoğunluğu seviyesi, tekrarlama hızı/frekansı ve tedavi protokolüdür. (14,52) LLLT prosedürleri genellikle 600 ile 1000 nm dalga boyu, (14,31) çıkış gücü 1 ile 50,000 mW (47) ve enerji yoğunluğu 1 ile 9 J/cm² (31,52) aralığında uygulanır. Dokudaki ışığın emilmesi ve saçılması, ışık spektrumunun mavi bölgesinde kırmızıya göre daha yüksektir, çünkü ana doku kromoforları (hemoglobin ve melanin) daha kısa dalga boylarında yüksek emilim bantlarına sahiptir ve ışığın doku saçılması kısa dalga boylarında daha yüksektir. Bu nedenle, LLLT'nin hayvanlarda ve insanlarda neredeyse tamamen kısa dalga boyuna sahip kırmızı ve yakın kızıl ötesi (600 – 1000 nm) ışığı kullanılır. (18) LLLT uygulaması dairesel, doğrusal ızgara deseni ve noktasal olarak hedeflenen noktaya ve geniş alanlara basınç uygulanarak veya basınç uygulamadan gerçekleştirilebilir. (52) LLLT prosedürü (güç/ışın alanı) × zaman = J/cm² formülüne göre hesaplanmaktadır. (53)

Terapötik lazer kullanan klinik uygulamalarının sayısı önemli ölçüde artmış ve LLLT veteriner hekimlikte önemli bir tedavi yöntemi haline gelmiştir. Günümüzde, LLLT'nin ağrıyı kontrol etme, yangıyı modüle etme, iyileşme ve doku rejenerasyonunu uyardırmaya yardımcı olduğuna dair çok güçlü kanıtlar mevcuttur. (5,8,14) Veteriner hekimler, insan hastalarında benzer durumların tedavisinde bildirilen başarıya dayanarak, ilk olarak kas-iskelet sistemi hastalıklarını tedavi etmek için LLLT kullanmışlardır. (9,27,53) Yaraların başarılı bir şekilde tedavi edilmesi kısa sürede yaygın olarak rapor edilmeye başlamıştır. (15,57) Benzer şekilde ağrı kontrolünün sağlanması için de LLLT kullanımı bildirilmiştir. (13,21) Veteriner hekimler daha sonra bu yöntemin

kullanımını ağız boşluğunu da içeren çok çeşitli hastalıkların tedavisi veya modülasyonu için genişletmiştir.

Son 10 yılda, LLLT'den beklenen sonuçlarda uygun prosedür ve dozlamının oynadığı roller hakkında çok şey öğrenildi. (17) Uygun dozlama ve uygulamaya ilişkin artan bilgi, hekimlerin ağız boşluğu için başarılı tedavi protokolleri tasarlamasına olanak tanımaktadır. Veteriner hekimlerin LLLT ile tedavi ettiği diğer durumlarda olduğu gibi, oral hastalıkların başarılı tedavisi, insan oral hastalıklarının tedavisinde rapor edilen bilgileri yansıtmaktadır. (12,20)

2. Kedilerde Stomatitis

Kedi stomatitis (KST) yaygınlığı gittikçe artan, kronik gingivostomatitis, kronik ülseratif stomatitis, nekrotizan stomatitis, lenfoplastik stomatitis gibi farklı isimlendirmeleri bulunan, (38) kedi hastalarında prevalansı %0,7 - 12 olarak belirlenen, (54) hastaya ciddi rahatsızlık veren, genellikle yönetilmesi ve tedavisi zor ciddi bir hastalıktır. KST en çok üzerinde araştırma yapılan konulardan biri olmasına rağmen etiyojisi büyük ölçüde belirlenmemiştir. Önceki yapılan çalışmaların bazılarında, KST'li kedilerde, KST bulunmayanlara göre daha yüksek bir feline calicivirus prevalansı bulmasına (29,48) ve akut calicivirus enfeksiyonu olan kedilerde geçici oral ülserasyon gözlenmesine rağmen, (22,35) kronik oral inflamasyon hem doğal olarak meydana gelen hem de deneysel olarak indüklenen akut calicivirus enfeksiyonunun bir patolojik sonucu olarak ortaya çıkmamıştır. (35) KST bilinmeyen bir antijenik uyarana uygun olmayan bağışıklık tepkisi ile bazı araştırmacılar tarafından karakterize edilir, ancak altta yatan viral ve bakteriyel etiyojiler de öne sürülmüştür. (34,48)

Kedilerde KST palatoglossal kıvrımları, diş etlilerini ve bazen de alveolar ve labiobukkal mukozanın lateralindeki alanlarda inflamasyon ile karakterize, ciddi ağrılı ve kilo kaybına sebep olan ülseratif ve ülseroproliferatif lezyonların sıklıkla görüldüğü bir hastalıktır. (55) Kedilerde en sık karşılaşılan belirti ağız açıldığında oluşan ciddi ağrıdır. Hastalık şiddetlendikçe ağız kokusu ve yutkunma gücüğü görülebilir ve zamanla kilo kaybı belirgin hale gelir. Hastanın rahatsızlığı ve ağrısı nedeniyle sedasyon olmadan ağız boşluğu muayene etmesi oldukça zordur. (49)

Kedilerde KST teşhisi genellikle kaudal ağız boşluğunun bilateral inflamasyonun gözlenmesiyle konur. Fakat böbrek yetmezliği gibi diğer potansiyel problemlerinde değerlendirilmesinin yanı sıra calici ve herpes

viruslarının izole etme girişimleri önemlidir. Biyopsi genellikle lenfositlerin ve plazma hücrelerinin baskın olduğunu ortaya koyar. (49) Klinik olarak KST, ağız boşluğu içinde generalize, lokalize veya proliferatif olarak görünebilir. Periodontitis ve diş rezorpsiyonu aynı zamanda generalize veya lokalize inflamasyonla da ilişki olabileceği için, generalize, lokalize veya proliferatif durumu ayırt etmek amacıyla tüm ağız radyograflerinin alınması önemlidir. (35)

Başarılı bir KST tedavisi, oral bakterilerin en aza indirilmesi gerekir. KST bulunan hayvanlarda ciddi bir ağrı söz konusu olduğu için mekanik yollarla (diş fırçalama gibi) günlük plağın uzaklaştırılması oldukça zordur. Bu nedenle plak tutucu yüzeylerin diş çekimi ile azaltılması, plağı en aza indirmenin ve oral inflamasyonu azaltmanın en etkili yolu olduğu kanıtlanmıştır. (35) Önceki yapılan çalışmalar, KST'li kedilerin tüm premolar ve molar dişlerinin çekiminden sonra önemli ölçüde iyileştiği ve bu nedenle cerrahi tedavinin KST'li kediler için mevcut bakım standardı olduğunu rapor etmiştir. (6,24) Bununla birlikte, premolar/molar veya tam ağız diş çekimlerine yanıt vermeyen kedilerde vardır. Anormal dokunun bir karbondioksit (CO₂) cerrahi lazer ile çıkarılması, kaudal stomatiti için yardımcı bir tedavi olarak bildirilmiştir. (32)

Medikal tedavi genellikle inflamasyonu, enfeksiyonu ve ağrıyı kontrol etmeye odaklanır. Bu amaç için kortikosteroidler, immunosüpresif (örneğin; siklosporin veya klorambusil), antibiyotik (örneğin; amoksisilin-klavulanik asit, klindamisin veya azitromisin) ve ağrı kesici (örneğin; buprenorfine veya fentanil) ilaçlar kullanılmaktadır. (35) Glukokortikoidlerin immunosüpresif etkileri olduğu için, (37) kolay erişilebilir ve ucuz olmaları nedeniyle KST tedavisinde en sık tercih edilen ajanlardır. Bununla birlikte steroid uygulamalarının yararlı etkileri tutarsızdır ve davranış değişiklikleri, derinin incilmesi, poliüri, polidipsi ve diabetes mellitus gelişme potansiyeli gibi zarar etkiler eşlik edebilir. (36,37) Bu nedenle alternatif tedavi metotları araştırılmaktadır. Omega interferon, antiviral ve immünomodülatör etkileri için KST'li kedilerde önerilmiştir. (50) Bazı araştırmalar konvansiyonel tedavilere dirençli vakalarda etkinliğini göstermiş olsa da, (25) omega interferon kullanımının resorptif lezyonun kontrolünde monoterapi olarak başarı bir şekilde kullanılabileceğine dair henüz bir kanıt bulunmamaktadır.

2.1. Stomatitisi Kedilerde Düşük Enerjili Lazer Tedavisi

Oral ağrı ve inflamasyonu azalttığına dair kanıtlar ve veteriner hekimlerin deneyimleri, kedi orafaringeal inflamasyon için medikal ve dental protokollerde

LLLT'nin kullanılmasını desteklemektedir. İnsanlarda bildirilen LLLT'nin antiviral etkilerinin, viral etiyojilerin bir faktör olması halinde, kedilerde KST'nin daha iyi sonuçlara katkı sunabilme olasılığı artmıştır. (40)

Kedilerde KST olgularında LLLT ile 2 şekilde tedavi edilebilir; 1) yüzeysel (hasta hayvan tedaviye ağız açık olarak izin veriyorsa, Şekil 1) 2) derin (hasta hayvan tedaviye ağız açık olarak izin vermiyorsa). Bazı araştırmacılar özellikle ciddi şekilde etkilenmiş hayvanlarda hem açık hem de kapalı ağız protokollerinin bir kombinasyon şeklinde uygulanmasını önermektedir. (51)



Şekil 1. Bir kedide kapalı ağız düşük enerjili lazer terapisi uygulaması

Ağız açıkken LLLT prosedürlerinde, lazer ışığının hedef dokuya ulaşmak için diğer dokulardan geçmesi gerekmediği için 3 - 4 J/cm² aralığındaki dozlar önerilir. Bu yöntemde hedef bölgeden 1 - 2 cm uzakta tutulan bir lazer probu

kullanılması önerilmektedir. Hatta bu tür tedavi prosedürlerinde, lazer ışığını paralelleştiren ve dokudan daha uzak bir mesafede tedaviye izin veren bir lazer probu kullanılmalıdır. Lazer gücü ayarı 3 W'tan daha fazla olmamalı ve lazer probu 3 - 4 J/cm²'lik toplam doz iletene kadar tüm etkilenen alan üzerinde hareket ettirilmelidir. (49)

Ağız kapalıyken LLLT prosedürlerinde 6 - 8 J/cm² aralığındaki dozlar önerilmektedir. LLLT tedavisi uygulanacak alan bir taraftaki temperomandibular eklemden, ağzın ön yüzünden geçerek diğer taraftaki temperomandibular ekleme kadar, ayrıca ventral yönde intermandibular boşluk boyunca uzatılmalıdır. Terapötik bir dozun hedef dokuya ulaştığından emin olmak için ağız kapalıyken uygulanan LLLT toplam dozu, ağız açıkken uygulanan LLLT'nin yaklaşık olarak 2,5 katı olmalıdır. Lazer gücü ayarı 3 - 4 W olmalıdır ve lazer probu, toplam 6 - 8 J/cm²'lik doz iletene kadar tedavi edilecek tüm alan üzerinde hareket ettirilmelidir. (49)

Hastalığın şiddeti, kronikliği ve derecesi hastanın ne sıklıkla tedavi edileceğini belirlemelidir. KST kronik bir durum olduğu için yönetim planı, uzun süreli idame tedavilerin takip ettiği indüksiyon ve geçiş aşamalarını içermelidir. LLLT'nin indüksiyon aşaması genellikle güneşli tedavilerle başlar ve istenilen bir klinik yanıt kaydedilene kadar devam ettirilmelidir. Şiddetli ağrılı olgularda, gün aşırı tedavilere geçmeden önce arka arkaya 3 ile 4 gün LLLT yapılması önerilir. İyileşme kaydedilmesini takiben, hastayı istenen konfor seviyesinde tutmak kaydıyla, daha az sıklıkta LLLT prosedürlerine kademeli olarak geçiş yapılabilir. KST gibi kronik olgularda uygun ve sürekli yönetimin başarı için kritik öneme sahip olduğu unutulmamalıdır. Bu olgularda yapılan yaygın bir hata, LLLT'nin tedavi sıklığının erken azaltılmasıdır. (49) 2017 yılında 10 KST'li kedi üzerinde yapılan bir çalışmada diş çekimi sonrası yapılan 2 farklı dozda LLLT (grup 1: 0,32 J/cm², grup 2: 0,16 J/cm²) uygulamasının herhangi bir yan etki olmadan düşük enerji yoğunluğuna sahip gruptaki hayvanların daha hızlı iyileşme sağladığını bildirmiştir. (51)

3. Köpeklerde Stomatitis

Köpeklerde kronik ülseratif paradental stomatitis (veya köpek kronik ülseratif stomatitis, idiopatik stomatitis, ülseratif stomatitis, lenfositik plazmasitik stomatitis) olarak adlandırılan şiddetli, kronik, ülseratif ve oral inflamatuvar lezyonlarla seyreden bir hastalıktır. (38) Hastalığın bulunduğu köpeklerde, ağrı, ağız kokusu, salya artışı, kilo kaybı, ağız ülserleri, ağız

bölgesine dokunulduğunda agresiflik, depresyon, halsizlik ve genellikle kilo kaybı gözlemlenir. Ülseratif lezyonlar sadece ağız mukozal yüzeylerinde değil, aynı zamanda dilin yan kenarlarında, dudakların mukokutanöz bileşkesinde, dişsiz alanlarda, glossopalatin kıvrımlarda ve damak bölgesinde de gözlemlenebilir. (19) Maltese Terrier, Cavalier King Charles Spaniel, Labrodor Retriever, Greyhound ve terrier ırklarının bu hastalığa prevalansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. (11,19) Kronik ülseratif paradental stomatitis için ayırıcı tanı lupus eritematozus, (28,45) pemfigus vulgaris, (10) büllöz pemfigoid, (44) eritema multiforme, (56) epiteliyotropil T-hücreli lenfoma (41) ve daha az olasılıkla üremik stomatitis (3) hastalıklarını içerir.

Kronik ülseratif paradental stomatitis hastalığının etiyojisi tam olarak anlaşılammıştır. Fakat bu hayvanların anormal bir bağışıklık sistemi tepkisine sahip oldukları ve bakteri plağının varlığına karşı toleranssız oldukları belirlenmiştir. Az miktarda plak varlığında bile dişlerle temas halindeki mukoza zarlarında anormal bir ülseratif inflamatuvar yanıtı yol açtığı gözlemlenmiştir. (33,42) Periodontal hastalıklar, salivasyon glikoproteinleri ve bakterilerin (plak) birikmesiyle başlar. Devamında oluşan diş eti dokusu hasarı ve alveolar kemik kaybı, uygun olmayan inflamasyon ile konak yanıtlarından kaynaklanmaktadır. Periodontal endeksler ve tüm ağız diş radyografileri, hem insanlarda hem de köpeklerde periodontal hastalığın evresini gösterir. (2)

Bu kronik durumun yönetimi hem veteriner hem de hasta sahibi için oldukça zor ve genellikle başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Tedavinin odak noktası titiz bir şekilde plak kontrolü sağlanmasına dayanır. Eşzamanlı periodontal hastalığı olan dişler çekilmeli ve evde diş sağlığı bakımı başlatılması gerekir. Uygun antibiyotik kullanımı ve kontrollü kortikosteroid kullanımı ile tıbbi tedavi bazen gereklidir. Bunlara ilaveten, bu hastalıkların oldukça ağrılı olması, ağrı kontrolü kaçınılmaz hale getirmektedir. (49)

3.1. Stomatitli Köpeklerde Düşük Enerjili Lazer Terapisi

LLLT'nin kullanılmasındaki amaç, potansiyel olumsuz etkileri en aza indirirken ağrı ve yangıyı azaltmak için çok modlu bir yaklaşımın parçası olarak kullanılmaktadır. LLLT köpeklerde kronik ülseratif paradental stomatitis için tek tedavi olmamalıdır. Kedi stomatitis tedavisinde kullanıldığı gibi LLLT kullanılır ve tedavinin indüksiyon, geçiş ve idame aşamalarını içermelidir. Tıpkı kedi stomatitisinde olduğu gibi, tedavilerin sıklığı, durumun ciddiyetine ve tedaviye verilen cevaba göre belirlenmelidir.



Şekil 2. Bir köpekte kapalı ağız düşük enerjili lazer terapisi uygulaması

Köpek hastaları, LLLT tedavisini ağız açık veya ağız kapalı (Şekil 2) olarak tedavi edilebilir. Bukkal veya labiyal mukozal dokuları tedavi ederken çeneleri açılmadan, dudakların kaldırılması genellikle köpeklerde tarafından tolere edilir. Bu teknik, terapötik ışınların hedef dokuya doğrudan iletilmesini sağlar. Ağız açıkken doğrudan hedef dokuya tedavi ederken, 4 W'tan fazla olmayan bir güç ayarıyla 3 – 4 J/cm²'lik bir doz uygulanmalıdır. Bu tedavi, LLLT probu hedef dokudan 1 - 2 cm uzakta tutularak gerçekleştirilmelidir. LLLT probu, 3 – 4 J/cm²'lik toplam doz iletilene kadar tüm etkilenen alan üzerinde hareket ettirilmelidir. Hasta ağız açıkken tedaviyi tolere edemiyorsa, tedavi 6 – 10 J/cm²'lik bir dozda ve 4 – 8 W'lık güç ayarıyla yüz dokuları yoluyla tüm etkilenen bölgeye uygulanabilir. Doz hastanın boyuna ve yüz dokularının kalınlığına göre

ayarlanmalıdır. Mümkünse, daha derin dokulara foton penetrasyonunu arttırmak için LLLT probu yüz dokularıyla temas halinde kullanılmalıdır. (49)

4. Sonuç

LLLT tedavisi pek çok veterinerlik uygulamasında bir bakım standardı haline gelmiştir. LLLT, ağız dokularında iyileşmeyi uyarırken hem ağrıyı hem de inflamasyonu azaltmaya yönelik multimodal yaklaşımın önemli bir bileşenidir. Oral hastalıkların çoğunda, ilgili dokunun şiddeti, kronikliği, boyutu ve kalınlığından kaynaklanan bazı varyasyonlarla birlikte ağızda benzer değişikliklere neden olur. Her ne olursa olsun, tüm ağız lezyonları benzer LLLT protokolleri ile tedavi edilebilir. Maligniteler haricinde, ağızda gerçekleşen yangı, ağrı veya doku hasarı ile ortaya çıkan herhangi bir hastalıkta Veteriner hekimler LLLT kullanmayı tercih edebilir. Ayrıca LLLT kullanımı retinal hasara neden olabileceği için hem cihazı kullanan hekimin hem de hayvanların koruyucu gözlük kullanılması gerektiği unutulmamalıdır.

Kaynaklar

1. Altan AB, Bicakci AA, Avunduk MC, Esen H. The effect of dosage on the efficiency of LLLT in new bone formation at the expanded suture in rats. *Lasers Med Sci.* 2015;30(1):255-262.
2. Anderson JG, Peralta S, Kol A, Kass PH, Murphy B. Clinical and histopathologic characterization of canine chronic ulcerative stomatitis. *Vet Pathol.* 2017;54(3):511-519.
3. Arzi B, Anderson JG, Verstraete FJ. Oral manifestations of systemic disorders in dogs and cats. *J Vet Clin Sci.* 2008;1(4):2-13.
4. Atasoy KT, Korkmaz YT, Odaci E, Hanci H. The efficacy of low-level 940 nm laser therapy with different energy intensities on bone healing. *Braz Oral Res.* 2017;31:e7.
5. Avcı P, Gupta A, Sadasivam M, Vecchio D, ve ark. Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring. *Semin Cutan Med Surg.* 2013;32(1):41.
6. Bellei E, Dalla F, Masetti L, Pisoni L, Joechler M. Surgical therapy in chronic feline gingivostomatitis (FCGS). *Vet Res Commun.* 2008;32(Suppl 1):231-234.
7. Bellows J. Laser and radiosurgery in veterinary dentistry. *Vet Clin North Am Small Anim.* 2013;43(3):651-668.

8. Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RAB. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(2):158-168.

9. Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Joensen J, ve ark. A systematic review with procedural assessments and meta-analysis of low level laser therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow). *BMC Musculoskelet Disord.* 2008;9(75):1-15.

10. Blair RV, Wakamatsu N, Pucheu-Haston CM. Pathology in practice. *J Am Vet Med Assoc.* 2014;246(4):419-421.

11. Carmichael DT. Diagnosing and treating chronic ulcerative paradental stomatitis. *Vet Med.* 2004;99(12):1008-1010.

12. Chermetz M, Margherita G, Ronfani L, ve ark. Class IV laser therapy as treatment for chemotherapy-induced oral mucositis in onco-haematological paediatric patients: a prospective study. *Int J Paediatr Dent.* 2014;24(6):441-449.

13. Chow R, Armati P, Laakso EL, Bjordal JM, Baxter GD. Inhibitory effects of laser irradiation on peripheral mammalian nerves and relevance to analgesic effects: a systematic review. *Photomed Laser Surg.* 2011;29(6):365-381.

14. Chung H, Dai T, Sharma SK, Huang YY, Carroll JD, Hamblin MR. The nuts and bolts of low-level laser (light) therapy. *Ann Biomed Eng.* 2012;40(2):516-533.

15. Cunha JLS, Carvalho FMDAD, Pereira FRN, Ribeiro MAG. Effects of different protocols of low-level laser therapy on collagen deposition in wound healing. *Braz Dent J.* 2019;30(4):317-324.

16. Da Silva JP, da Silva MA, Almeida APF, Junior IL, Matos AP. Laser therapy in the tissue repair process: a literature review. *Photomed Laser Surg.* 2010;28(1):17-21.

17. Enwemeka CS. Intricacies of dose in laser phototherapy for tissue repair and pain relief. *Photomed Laser Surg.* 2009;27(3):387-393.

18. Farivar S, Malekshahabi T, Shiari R. Biological effects of low level laser therapy. *J Lasers Med Sci.* 2014;5(2):58.

19. Ford KR, Anderson JG, Stapleton BL, ve ark. Medical Management of Canine Chronic Ulcerative Stomatitis Using Cyclosporine and Metronidazole. *J Vet Dent.* 2023;17: 8987564221148755.

20. Freire MRS, Freitas R, Colombo F, Valença A, Marques AMC, Sarmiento VA. LED and laser photobiomodulation in the prevention and

treatment of oral mucositis: experimental study in hamsters. *Clin Oral Investig*. 2014;18(3):1005–1013.

21. Fulop A, Dhimmer S, Deluca JR ve ark. A meta-analysis of the efficacy of laser phototherapy on pain relief. *Clin J Pain*. 2010;26(8):729–736.

22. Gaskell CJ, Gaskell RM, Dennis PE, Wooldridge MJA. Efficacy of an inactivated feline calicivirus (FCV) vaccine against challenge with United Kingdom field strains and its interaction with the FCV carrier state. *Res Vet Sci*. 1982;32(1):23-26.

23. Hamblin MR, Demidova TN. Mechanisms of low level light therapy. *SPIE BIOS*. 2006;6140:1-12.

24. Hennet PR, Camy GA, McGahie DM, Albouy MV. Comparative efficacy of a recombinant feline interferon omega in refractory cases of calicivirus-positive cats with caudal stomatitis: a randomised, multi-centre, controlled, doubleblind study in 39 cats. *J Feline Med Surg*. 2011;13:577-587.

25. Hennet P. Chronic gingivo-stomatitis in cats: long-term follow-up of 30 cases treated by dental extractions. *J Vet Dent*. 1997;14(1):15-21.

26. Huang YY, Sharma SK, Carroll J, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy—an update. *Dose-Response*, 2011;9(4):602-618

27. Jang H, Lee H. Meta-analysis of pain relief effects by laser irradiation on joint areas. *Photomed Laser Surg*. 2012;30(8):405-417.

28. Junginger J, Schwittlick U, Lemensieck F, Nolte I, Hewicker-Trautwein M. Immunohistochemical investigation of Foxp3 expression in the intestine in healthy and diseased dogs. *Vet Res*. 2012;43(23):1-14.

29. Knowles JO, Gaskell RM, Gaskell CJ, Harvey CE, Lutz H. Prevalence of feline calicivirus, feline leukaemia virus and antibodies to FIV in cats with chronic stomatitis. *Vet Res*. 1989;124(13):336-338.

30. Kurach LM, Stanley BJ, Gazzola KM. The effect of low-level laser therapy on the healing of open wounds in dogs. *Vet Surg*. 2015;44(8):988-996.

31. Leal-Junior E, Johnson DS. The Comparative Pilars Paper: From Validation to Separation. Retrieved from: Laser Therapy University: Online. 2015 Available at: <http://www.lasertherapyu.org/>. Online research summary. Erişim Tarihi 20 Aralık, 2017.

32. Lewis JR, Tsugawa AJ, Reiter AM. Use of CO₂ Laser as an Adjunctive Treatment for Caudal Stomatitis in a Cat. *J Vet Dent*. 2007;24(4):240-249.

33. Lobprise HB. Oral ulceration and chronic ulcerative paradental stomatitis. Lobprise HB editor. Blackwell's Five- Minute Veterinary Consult

Clinical Companion – Small Animal Dentistry. 2. ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell; 2012: 243-247.

34. Lommer MJ, Verstraete FJ. Concurrent oral shedding of feline calicivirus and feline herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18:131–134.

35. Lommer MJ. Oral inflammation in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2013;43(3):555-571.

36. Lowe AD, Graves TK, Campbell KL, Schaeffer DJ. A pilot study comparing the diabetogenic effects of dexamethasone and prednisolone in cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2009;45(5):215–24.

37. Lowe AD, Campbell KL, Graves T. Glucocorticoids in the cat. *Vet Dermatol.* 2008;19(6):340-347.

38. Lyon KF. Gingivostomatitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2005;35(4):891-911.

39. Najeeb S, Khurshid Z, Zafar MS, Ajlal S. Applications of light amplification by stimulated emission of radiation (lasers) for restorative dentistry. *Med Princ Pract.* 2016;25(3):201-211.

40. Navarro R, Marquezan M, Cerqueira DF, Silveira BLDA, Correa MSNP. Low-level-laser therapy as an alternative treatment for primary herpes simplex infection: a case report. *J Clin Pediatr Dent.* 2007;31(4):225–228.

41. Nemeč A, Zavodovskaya R, Affolter VK, Verstraete FJM. Erythema multiforme and epitheliotropic T-cell lymphoma in the oral cavity of dogs: 1989 to 2009. *J Small Anim Pract.* 2012;53(8):445-452.

42. Niemiec BA. Chronic ulcerative paradental stomatitis. Niemiec BA editor. *Small Animal Dental, Oral and Maxillofacial Disease: A Color Handbook.* 1. ed. London: Manson Publishing; 2010: 189-191.

43. Okur S, Okumuş Z. Effects of low-level laser therapy and therapeutic ultrasound on Freund's complete adjuvant-induced knee arthritis model in rats. *Arch Rheumatol.* 2022; Online Press.

44. Olivry T, Jackson HA. Diagnosing new autoimmune blistering skin diseases of dogs and cats. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2001;16(4):225-229.

45. Olivry T, Rossi MA, Banovic F, Linder KE. Mucocutaneous lupus erythematosus in dogs (21 cases). *Vet Dermatol.* 2015;26(4):256-e55.

46. Pryor B, Millis DL. Therapeutic laser in veterinary medicine. *Vet Clin North Am Small Anim.* 2015;45(1):45-56.

47. Qaseem A, Wilt TJ, McLean RM. Noninvasive treatments for acute, subacute, and chronic low back pain: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med.* 2017;66(7):514-530.
48. Quimby JM, Elston T, Hawley J, Brewer M, Miller A, Lappin MR. Evaluation of the association of Bartonella species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. *J Feline Med Surg.* 2008;10(1):66-72.
49. Ray AA. Chapter 15: Oral Conditions. Riegel RJ, Godbold Jr JC editörler. 1. ed. Hoboken, NJ: Wiley–Blackwell; 2015:161-168.
50. Southerden P, Gorrel C. Treatment of a case of refractory feline chronic gingivostomatitis with recombinant interferon omega. *J Small Anim Pract.* 2007;48:104-106.
51. Squarzoni P, Bani D, Cialdai F, Monici M. NIR Laser Therapy in the Management of Feline Stomatitis. *SM Dermatolog J.* 2017;3(3):1021.
52. Taylor DN, Winfield T, Wynd S. Low-Level Laser Light Therapy Dosage Variables vs Treatment Efficacy of Neuromusculoskeletal Conditions: A Scoping Review. *J Chiropr Med.* 2020;19(2):119-127.
53. Turgut F, Yanmaz LE. Investigating effects of locally applied boric acid on fracture healing with and without low-level laser therapy. *Lasers Med Sci.* 2022;38(1):11.
54. Vapniarsky N, Simpson DL, Arzi B. Histological, immunological, and genetic analysis of feline chronic gingivostomatitis. *Front Vet Sci.* 2020;3(7):310.
55. Winer JN, Arzi B, Verstraete FJ. Therapeutic management of feline chronic gingivostomatitis: a systematic review of the literature. *Front Vet Sci.* 2016;18(3):54.
56. Yager JA. Erythema multiforme, Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a comparative review. *Vet Dermatol.* 2014;25(5):406-e64.
57. Zhao H, Hu J, Zhao L. The effect of low-level laser therapy as an adjunct to periodontal surgery in the management of postoperative pain and wound healing: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci.* 2021;36(1):175-187.

BÖLÜM V

ÇİFTLİK HAYVANLARINDA ABORUS

Abortion in Farm Animals

Yavuz MUSABEŞEOĞLU¹ & Reyda KIYICI² & Hasan Altan AKKAN³ & İbrahim TAŞAL⁴ & Mehmet KARACA⁵

¹(Öğr. Gör.), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

e-mail: yavuz_musabeseoglu@hotmail.com

ORCID: 0000-0001-6152-7787

²(Dr. Öğr. Üyesi), Burdur Mehmet Akif

Ersoy Üniversitesi, Gıda Tarım Hayvancılık

Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Süt ve

Besi Hayvanı Yetiştiriciliği Programı, Burdur, Türkiye

e-mail: rkiyici@mehmetakif.edu.tr,

ORCID 0000-0002-0667-5477

³(Prof. Dr.), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

e-mail: hasanaltanakkan@mehmetakif.edu.tr,

ORCID 0000-0002-5115-7687

⁴(Prof. Dr.), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

e-mail: ibrahimtasal@hotmail.com

ORCID: 0000-0003-4632-3115

⁵(Prof. Dr.), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi,

Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

e-mail: mkaraca@mehmetakif.edu.tr,

ORCID 0000-0002-6070-2819

1. Giriş

Diş ortamda yaşama şansı bulunmayan fetüsün, gebelik süresi tamamlanmadan, çoğunlukla ölü, bazen de canlı olarak uterustan dış ortama çıkmasına abortus denir. Bir başka ifade ile ineklerde gebeliğin 45-265. günleri arasında fetüsün ölmesi veya atılması abortus olarak tanımlanmaktadır. (1) Koyun ve keçilerde ise 130 günden önce şekillenen doğumlar abortus olarak kabul edilmektedir. (2) Fekondasyondan embriyonik farklılaşma dönemine kadar olan yavru kayıpları embriyonik ölüm olarak isimlendirilir ve bu dönemde ölen yavru rezorbe edilir. Eğer embriyonik ölüm, tohumlamayı izleyen ilk 12-13 gün içerisinde şekillenirse seksüel siklus etkilenmez ve yeniden siklus başlayabilir. Fetal dönemdeki yavru ölümleri ise çoğunlukla abortus, daha az sayıda da mumifikasyon veya maserasyon ile sonuçlanır. İneklerde yıllık abortus oranı %5 civarındadır. Ancak, gebeliğin ikinci ve üçüncü ayında oluşan ve fark edilmeyen abortuslar bu rakama dahil edilmemektedir. Bir işletmede %10 ve üzeri abortus olmuşsa ciddiye alınmalıdır. (1)

Küçükbaş hayvanların et ve süt verimini arttırabilmek için; döl veriminin devamlılığı sağlanmalıdır. Koyunlarda gebe kalmayı etkileyen olumsuz faktörler ineklere göre daha azdır. (3) Küçükbaş hayvanlarda abortus; fetüslerin ölümü, süt üretiminin azalmasına ve buna bağlı olarak ciddi ekonomik kayıplara neden olabilir. Ayrıca, abortus sporadik ya da enzootik salgınlar şeklinde ortaya çıkabilir. (4)

Abortuslar, sürü halinde barındırılan hayvanlar olması nedeniyle küçük ruminantlarda infertilite olgularının en önemli sebepleri olarak bildirilmektedir. Bu hayvanlarda bireysel abortus ve infertilite çok önemli olmamaktadır, sürü bazındaki abortuslar ise ciddi ekonomik kayıplara sebebiyet vermesi ve ek olarak zoonoz özellik taşıyan bazı olguların insan sağlığını da tehlikeye atması nedeniyle önemlidir. Abortuslar bir sürüde her zaman karşımıza çıkabilmektedir. Abortusun oranı ve meydana geldikleri zaman diliminin süresi önem arz etmektedir. Sağlıklı bir sürüde abortus oranının %2'den az olması beklenilmektedir. Örneğin; iki hafta gibi bir sürede veya bir çiftlikte ya da bir ağılda, bu oranın %5'i geçmesi durumunda çok ciddi ve agresif önlemler alınmalıdır. (5) Abort fırtınası olarak da adlandırılan durumlarda sürüdeki koyunların yaklaşık %50-60'ı birkaç gün içerisinde yavru atmakta ve ekonomik zararlar sonuçlanmaktadır. (3)

Abortlar nedenlerine göre enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz olarak isimlendirilmektedir. Nonenfeksiyöz nedenler arasında genetik faktörler,

hormonal bozukluklar, östrojen, kortikosteroid, prostaglandin uygulamaları, progesteron yetersizliği, annenin ateşli hastalıkları, bozuk gıda ve zehirlenmeler, yavru sayısının fazla olması, travmatik nedenler, alerji ve anafilaktik reaksiyonlar, bakım-besleme gibi yetiştiriciye bağlı faktörler, çevresel faktörler (ısı stresi vb.), toksinler ve iatrojenik faktörler yer almaktadır. Enfeksiyöz etkenler de bakteriler, mantarlar, protozoonlar ve viruslar olarak sınıflandırılabilir. (6, 1)

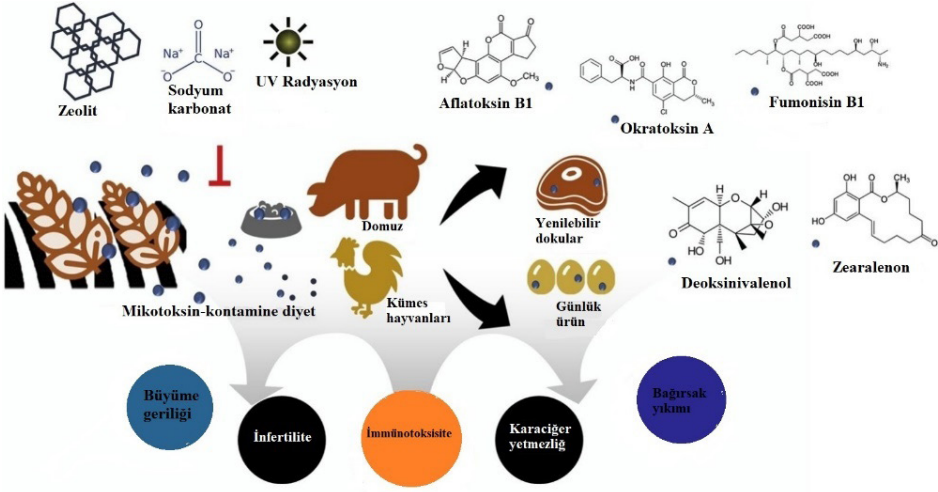
İyi bir anamnez, teşhise odaklanmada kritik öneme sahiptir. Toplanacak bilgiler, yavru atmış risk altındaki hayvanların oranını; düşük yapan hayvanların yaşı, kaynağı ve çiftlikteki konumu; abortlarda gebelik aşaması; koçlar ve tekeler dahil olmak üzere çiftlikteki hayvan hareketleri; getirilen hayvanların tedarik edildiği çiftliklerdeki sorunlar da dahil olmak üzere önceki abort sorunları; abort aşılılarıyla ilgili aşılama geçmişi; beslenme, özellikle gebe hayvanların tuz ve minerallerle beslenmesi, aç kalması ve aşırı beslenmesi; toksik veya teratojenik bitkilere veya ilaçlara olası maruz kalma; aşırı sıcaklık, stres gibi olası çevresel faktörler; abort öncesinde, sırasında veya sonrasında annede klinik hastalıkların bilinmesi gerekmektedir. (7)

2. Çiftlik Hayvanlarında Abortus Nedenleri

2.1. Enfeksiyöz Olmayan Abortus Nedenleri

2.1.1. Beslenme Bozuklukları

Gebelik dönemine göre dengeli bir beslemenin uygulanması gerekmektedir. Rasyondaki enerji dengesizliği, bakır, selenyum, kobalt, iyot, manganez gibi iz elementlerin eksikliği, vitamin A ve E noksanlığı, rasyonda bozuk veya küflü yem bulunması, toksik veya östrojenik yem verilmesi gibi birçok neden abortuslara yol açmaktadır. (5) Mantarlar tarafından üretilen mikotoksinler, gıda, yem ve tarla ortamındaki canlı organizmalarda besin zincirinin tüm aşamalarında bulunan ikincil metabolitlerdir. Mikotoksinle kontamine olmuş tahıl taneleri ve hayvan yemi dünya çapında sıklıkla bulunur. (8) Mikotoksinle kontamine bir diyet tüketen hayvanlar, neoplastik, östrojenik ve immünoşüpresif yönden olumsuz etkilenmekte olup üreme bozuklukları görülebilmektedir. (9)



Şekil 2.1. Çiftlik hayvanlarından türetilen maruz kalan hücrelerde toksisite uygulayan başlıca mikotoksinler tarafından düzenlenen fizyolojik özellikler. Aflatoksin B1, okratoksin A, fumonisin B1, zearalenon ve deoksinivalenol çiftlik hayvanlarının yemlerinde en sık bulunan mikotoksinlerdir. Kültürlenmiş domuz ve kuş hücreleri, majör mikotoksinlerin sitotoksitesini karakterize etmek için kullanılmıştır. Mikotoksinler, hayvan hücrelerinde artmış apoptozu veya azalmış proliferasyonu veya her ikisini birden indükler. Oksidatif stres, otofaji ve sinyal yolları dahil olmak üzere mikotoksin kaynaklı sitotoksitenin altında yatan çeşitli fizyolojik değişiklikler vardır. (9)

2.1.2. Hatalı İlaç Uygulamaları

Fenotiyazin ve karbon tetraklorür gibi birçok antihelmintik ilacın gebe hayvanlarda abortusa neden olduğu ayrıca gebeliğin geç dönemlerinde tetramizol kullanımının da abortuslara neden olduğu bildirilmektedir. Bazı hormonların, sedasyon ya da premedikasyon amacıyla kullanılan bazı ilaçlarında abortlara neden olduğu bilinmektedir. (1) Veteriner hekim ilaç kullanımı ve seçiminde mutlaka gebelik durumunu göz önüne almalı, eğer kullanılacak başka bir alternatif ilaç yoksa, uygulayacağı ilacın fetüse zarar verebileceğini ya da abort oluşturabileceği hayvan sahibine bildirilmeli ve onay alındıktan sonra medikal tedaviye başlanmalıdır. (10)

A kategorisi ilaçlar, normal dozlarda ilk trimesterde ve sonraki dönemlerde fetüs üzerine zararlı etkisi olmayan ilaçları kapsar. B kategorisi ilaçlar, deney hayvanları çalışmalarında teratojenik etkiler göstermemiş olmasına rağmen,

klirik deneyim bulguları yetersizdir. Bu gruptaki ilaçlar gerçekten gerekli ise gebe hayvanlarda kullanılabilir. C kategorisi ilaçlar, deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmaları yeterli değildir. Gebe hayvanın sağlık durumunun kullanacak ilaçtan daha fazla fetüse zarar verebileceğini karar verildiğinde kullanılmalıdır. D kategorisindeki ilaçlar, fetüse doğrudan zarar verdiği kanıtlanmıştır. X kategorisi ilaçlar, deney hayvanları ve diğer hayvanlarda yapılan çalışmalarında fetüse doğrudan zarar verdiği kanıtlanmıştır. Hiçbir şekilde kullanılmamalıdır. (11, 10)

2.1.3. Barınma ve Çevre Koşulları

Hayvan refahı uygulamalarına dikkat edilmelidir. Özellikle sıkışık, havasız ortamlarda hayvanların strese girmesi veya tekme ve boynuz darbeleri sonucu abortuslar meydana gelebilmektedir. Ayrıca, hayvanların taşınmasında gerekli kurallara uyulmaması, yükleme-indirme sırasında dikkatsizlik nedeniyle oluşan travma veya strese bağlı olarak abortuslar oluşmaktadır. (5) Bu nedenle gebe olan hayvanların uzun süreli seyahatlerden, aşırı efor harcamasını gerektiren durumlardan korunması, mümkün olduğunca stressiz bir ortamda barındırılmaları gerekmektedir. (12)

2.2. Enfeksiyöz Abortus Nedenleri

2.2.1. Bakteriyel Abortus Nedenleri

2.2.1.1. Brusellozis

Brusella abortus, fetüs, plasenta, uterus akıntısı veya bu ürünlerle kontamine olmuş materyallerin yenmesi yoluyla bulaşan zoonotik, gram negatif bir kokobasildir. (13) Hematojen yayılım yoluyla, bakteriler trofoblastlarda lokalize olur. Abortuslar genellikle gebeliğin beşinci ayından sonra gerçekleşir. Retensio sekundaryum ve metritis sıklıkla oluşur. (14)

Koyunlarda ve keçilerde yavru atmaya Brucella melitensis veya nadiren B. ovis neden olabilir. (15) Koyunlar genellikle asemptomatiktir, ancak üçüncü trimesterde düşük, ölü doğum veya zayıf yavru doğumları görülebilir. (14) Abortusa neden olan etkenler, enfekte hayvanların sütleri, süt ürünleri ve atık materyalleri aracılığıyla insanlara bulaştıkları için halk sağlığı açısından oldukça tehlikelidir. Dünya'daki yaygın enfeksiyöz zoonoz hastalıklardan biridir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) dünyada her yıl 500.000 insan bruselloz vakası olduğunu bildirmektedir. İnsan brusellozu olgularının %70'ine B.melitensis, %25'ine B.abortus ve % 5'ine de B.suis neden olmaktadır. (16)

B. ovis'in neden olduğu düşüklerdeki patolojik işaret, kotiledon ve interkotiledon nekrozlu süpüratif plasentit ve küçük intratrofoblastik gram-negatif kokobasildir. Ayrıca abort fetüslerde bronkopnömoni, splenomegali ve fibrinöz peritonit veya plörit görülebilmektedir. (17)

2.2.1.2. *Histophilus Somnus Enfeksiyonu*

Histophilus somnus, üreme sisteminde doğal olarak bulunur, ancak nadir olarak sığırlarda abortusla ilişkilendirilmiştir. (13) Organizma ayrıca embriyoların zona pellusidasına bağlanarak infertiliteye yol açabilir. Bulaşma, enfekte solunum veya vajinal akıntılarla kontamine olmuş materyallerle temas yoluyla gerçekleşir; bakteri daha sonra hematogen olarak fetüse yayılır. (14)

Histophilus somnus spor oluşturmeyen gram-negatif kokobasildir. Bu organizmanın neden olduğu hastalıklar arasında tromboembolik meningoensefalit, septisemi, artrit, erkeklerde ve dişilerde genital sistem enfeksiyonlarına bağlı üreme bozuklukları yer alır. Sığır mukus zarlarının bir kommensalidir. Patojenik ve patojenik olmayan suşlar bulunmuştur. Nazal ve ürogenital sekresyonların organizmanın kaynağı olduğuna ve sığır solunum hastalığı kompleksine önemli katkıda bulunduğu bildirilmektedir. *Histophilus spp.* ayrıca koyun ve keçilerde solunum yolu hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. (18)

2.2.1.3. *Leptospiroz*

Leptospiroz: Abort, ölü doğum, infertilite ve süt verimi kayıplarına neden olan, hayvancılık ekonomisi için çok önemli, zoonoz karakterli, bakteriyel bir enfeksiyondur. Hastalık akut septisemik veya kronik nefritik formlarında görülür. Hastalık etkeni hastalığı geçiren hayvanların böbreklerinde mikrokoloniler halinde yerleşir ve idrarla atılımı zaman alır. (19) Gebe hayvanlarda enfeksiyon abort, ölü doğum veya zayıf buzağuların doğumuna neden olabilir. Abort gebeliğin 4. ayından itibaren meydana gelmektedir. (14) Multifokal hepatik nekroz ve süpüratif bronkopnömoni, tipik olarak bakteri ile enfekte fetüslerde tanımlanan lezyonlardır. Fetal sarılık leptospiral enfeksiyonu düşündürülebilir, ancak *Leptospira spp.* çok kararsızdır ve kültürlenmesi zordur: histopatolojik incelemede hafif bir lenfoplazmasitik intersitisyel nefrit bulunabilir ve karakteristik uzun ince bakteriler Warthin-Starry boyama ile gösterilebilir. (20) Klinik belirtiler ateş, hemolitik anemi, hemoglobüri, sarılık, nadiren menenjit ve ölümü içerir. Laktasyondaki ineklerde tesadüfi enfeksiyonlar

genellikle az miktarda kanlı sütle ilişkilendirilir. Sığırlara kıyasla, koyunların leptospiral enfeksiyona karşı dirençli olduğu düşünülmüştür, tarihsel olarak düşük seroprevalanslar vardır ve yalnızca az sayıda serogrup klinik hastalığa karışmaktadır. (21)

2.2.1.4. Kamfilobakteriyozis

Campylobacter fetus subsp. *venerealis*, sığırlar arasında genital yolla bulaşan gram-negatif bir çubuktur. (13) Ayrıca kontamine yatak takımları veya aletler veya diğer enfekte hayvanlarla temas yoluyla da bulaşabilir. Vajina, serviks, endometriyum ve plasenta enfeksiyonu oluşabilir. Enfekte hayvanlar, erken embriyonik ölüm ve gebeliğin 4 ila 7. ayları arasında abort nedeniyle infertilite belirtileri yaşayabilir. Enfekte inekler genellikle 3-6 ay içinde organizmayı temizler. (14) Abortus genellikle gebeliğin sonunda meydana gelir ve sürünün %25'ine kadarını etkileyebilir. (7)

Campylobacter, Kuzey Amerika'da koyunlarda yavru atmanın en önemli nedenidir. (22) Koyun ve keçilerde *Chlamydia abortus* (*Chlamydia psittaci* serotip 1) enfeksiyonları tüm dünyada koyun yetiştiriciliği yapılan işletmelerde ekonomik öneme sahiptir. (23) *Campylobacteriosis*, koyunlarda abortların yaygın bir nedeni olmasına rağmen, keçilerde daha az belirgindir. (15) *Campylobacter jejuni* sporadik düşüklerden sorumluyken, *Campylobacter fetus* subsp. tekrarlayan düşük salgınları ile ilişkilidir. Zoonotik, gram-negatif çubuklar, yutma yoluyla bulaşır ve dışkı, atık fetüsler, plasenta ve abort yapan koyunların vajinal akıntıları ile yayılır. Koyunlar asemptomatiktir ve üçüncü trimesterde abort yapar, ölü doğum veya zayıf kuzuların doğduğu görülmektedir. (14) Kotiledon plasentit, multifokal nekrotizan hepatit ve süpüratif bronkopnömoni sıklıkla görülmektedir. (17)

2.2.1.5. Salmonellozis

Koyunlarda ve keçilerde abortus, *Salmonella abortus - ovis*, *Salmonella montevideo* veya *Salmonella arizonae* enfeksiyonunu takip edebilir. (15) Aşırı kalabalık koşullar ve nakliye, sürüleri abort salgınına yatkın hale getirebilir. Etkilenen koyunlar aborttan önce asemptomatik olabilir veya semptomatik olarak ateş, depresyon ve ishal belirtileri gösterebilir. Aborttan sonra metritis ve plasenta retensiyonu oluşabilir. Bu patojenler zoonotiktir. (14)

Salmonella türleri enfeksiyonlarına bağlı olarak gerçekleşen sığır düşüklerinin çoğu, *Salmonella dublin* ile ilişkilidir, ancak diğer serotipler de

dahil olabilir. Enfeksiyonun bağırsaklardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bakteriyemik epizotlar, enfeksiyonun plasentomda lokalizasyonuna ve çoğalmasına neden olmakta ve fetal villusların harabiyetine yol açarak fetüsün bakteriyel invazyonu olmadan abortus şekillenebilmektedir. Düşükler genellikle gebeliğin ikinci yarısındadır ve sıklıkla plasenta retensiyonu görülür. Korioallantois, diffüz gri, kırmızı koryonik yüzeyi olan fibrinöz sıvı ile kalınlaşmıştır. Kıkırdak dokusunun bazı kısımları kotiledonlara yapışık olabilir. Fetüs genellikle oldukça otolizedir ve amfizematöz olabilir. (24)

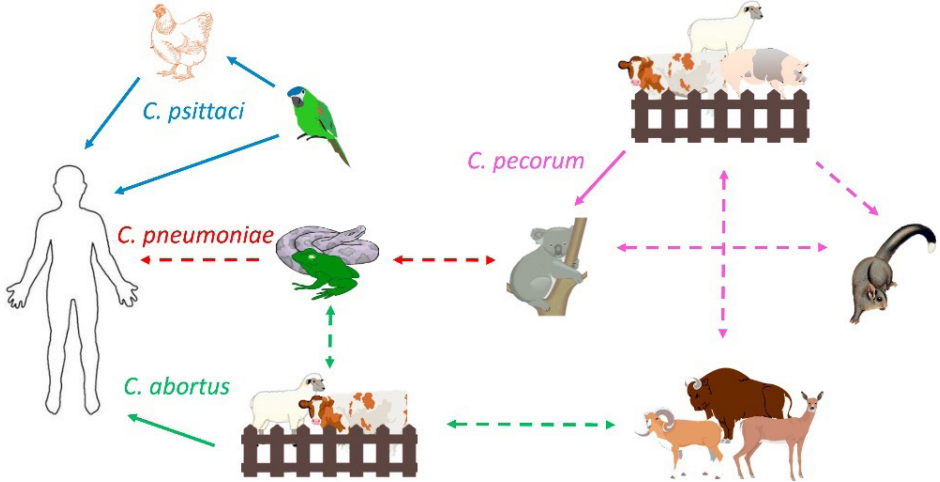
2.2.1.6. Listeriosis

Listeria monocytogens, bozulmuş yem veya enfekte fetüs, plasenta veya uterus akıntısı ile kontamine yemlerin yenilmesi yoluyla bulaşan zoonotik, gram-pozitif bir kokobasildir. (13) Organizma hematojen olarak plasenta ve fetüse yayılır. Abortus genellikle son trimesterde gerçekleşir. Enfekte inekler ateş, kilo kaybı, endometritis ve retensiyon sekondinarumun klinik belirtilerini gösterebilir. Koyunlar enfeksiyondan 7-30 gün sonra abort yapabilir. Aborttan önce koyunlarda ateş ve iştah azalması belirtileri görülebilir. Abortun ardından koyunlarda sıklıkla metritis gelişir. Ayrıca *Listeria ivanovii*'nin de koyunlarda yavru atmaya neden olduğu gösterilmiştir. (14) Abortların çoğu sporadik olarak gerçekleşir, ancak bazı durumlarda abortus fırtınaları meydana gelebilir. Düşük yapan ineklerde metritis nedeniyle ateş ve iştahsızlık olabilir. Yetişkin sığırlarda listeriyozis bazen ensefalite neden olabilir ancak bu, düşükle ilişkili olarak nadiren görülür. Enfeksiyon, zayıf fermente edilmiş silajın yutulması ile ilişkilendirilmiştir. (24) Yetersiz silaj fermantasyonu ve zayıf silaj besleme yönetimi, silajda patojenlerin çoğalmasını kolaylaştırır. *L. monocytogenes*'in farklı ortamlarda ve konakçılarda hayatta kalma kapasitesi, spor oluşturmeyen bakterilere özgüdür ve soğutma sıcaklıklarını, düşük su aktivitesini ve geniş bir pH aralığını tolere edebilmesi gerçeğiyle ilgilidir. (25)

2.2.1.7. Enzootik Abortus (*Chlamydial Abortus*)

Koyunların enzootik abortusu olarak da bilinen hastalık keçi, insan, geyik ve karaca gibi canlıları da enfekte eder (Şekil 2.2). *Chlamydia psittaci* tarafından oluşturulan hastalık abortuslara neden olur. Hastalığın yayılmasında, kuzulama dönemindeki hasta hayvanlara ait plasenta, vajinal akıntı, atık ya da ölü yavru ile temaslı altlık oldukça önemlidir. Hastalığın, abortustan birkaç gün önce oluşan vajinal akıntı dışında belirgin bir semptomu yoktur. Gebeliğin

erken dönemlerinde hastalığın bulaştığı hayvanlar bulaşmayı izleyen 40-50. günlerde abort yaparlar. Gebeliğin daha ileri dönemlerinde hastalığın bulaşması halinde prematüre, zayıf veya ölü yavru doğumları gözlenebilir. Gebeliğin geç dönemlerinde oluşan bulaşmalarda abortus gözlenmez fakat hastalık latent forma geçerek bir sonraki gebelikte abortusa neden olabilir. (12)



Şekil.2.2 Klamidyda cinsindeki bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların yayılmasına ilişkin bildirilen ve şüphelenilen örnekler. Bildirilen olaylar düz çizgilerle gösterilirken, şüpheli olaylar ilgili klamidya türlerine göre renklendirilmiş kesikli çizgilerle gösterilir. Oklar, şüphelenilen veya rapor edilen bulaşma yönünü gösterir. (26)

2.2.2. Viral Abortus Nedenleri

2.2.2.1. Border Disease

Border disease virüsü (BDV), sığır viral diyare virüsü (BVDV) ve domuz kolera virüsüne benzer, zoonotik olmayan bir pestivirüstür. Gebeliğin 60-85. günlerinden önce enfekte olan koyunlarda fetal rezorpsiyon, abortus, maserasyon veya mumyalaşma görülür. Fetüs hayatta kalırsa, sürekli olarak virüsle enfekte olmaktadır. Enfeksiyon gebeliğin 85. gününden sonra meydana gelirse, düşük, zayıf veya normal kuzuların doğumu veya antikör pozitif kuzuların doğumu meydana gelebilir. Koyunlarda klinik belirti görülmez. (14) Sığırlarda Border disease enfeksiyonu yeni olmasada, Border disease ile çok yakından ilişkili olan BVDV sığırlarda çok daha yaygın olduğu için büyük ölçüde gözden kaçmıştır. BVD'nin patogenezi çok karmaşıktır ve klinik tanısı kolay değildir. (27)

Sınır hastalığı virüsü koyundan sığıra doğal olarak veya deneysel koşullar altında bulaşabilir. (28) Sığırlarda BDV bulaşmasındaki en önemli faktör, sürekli olarak BDV ile enfekte olmuş koyunlar ile sığırlar arasındaki doğrudan temastır. Aynı ahırda veya meralarda koyun ve sığır birlikte barındırıldığında ortaya çıkabilir. (29)

2.2.2.2. Mavi Dil Enfeksiyonu

Mavi dil virüsü, tatarcık (*Culicoides variipennis*) tarafından bulaşan bir orbivirüstür. (30) Gebeliğin ilk 100 gününde enfekte olan fetüsler, rezorbe olur veya abortus görülür. Gebeliğin 75 ila 100. günleri arasındaki enfeksiyonlar ölü doğumlara, zayıf buzağuların doğumuna veya beyin anomalileri olan buzağuların doğumuna neden olabilir. Gebeliğin 150. gününden sonra enfeksiyonun genellikle fetüs üzerinde olumsuz bir etkisi yoktur. (14) Enfekte koyunlar abort yapabilir, fetüsleri mummylaşabilir veya doğuştan kusurlu kuzular doğurabilir (hidranensefali, poreensefali, serebellar disgenezi, iskelet deformiteleri). Koyunlarda; ateş, topallık, ağız ve burun ülserleri ayrıca şişmiş dil, kulaklar veya yüz gibi klinik belirtiler gösterebilir. (15)

2.2.2.3. Schmallerberg Virüs

Shamonda/Sathuperi benzeri virüslerin Simbu serogrubuna ait yeni bir Orthobunyavirüsüdür. Almanya'da 2011 yılında Kuzey Ren-Vestfalya'daki süt sığırlarında ilk tespitinin ardından virüs enfeksiyonu Avrupa'dan hızla Hollanda, Belçika, Fransa, Almanya, İtalya, Lüksemburg, İspanya, İsviçre ve Birleşik Krallık'a yayılmıştır. Schmallerberg virüsü RNA'sı, *Culicoides* spp.'de de bulunmuştur. (20) Enfeksiyon yetişkin sığırlarda hipertermiye, süt üretiminde azalmaya ve sulu ishale neden olabilmektedir. Kuzularda abort, ölü doğum, oğlaklarda büyük lezyonlar ve buzağularda brachygnatia inferior, tortikolis, kifoz, skolyoz, artrogripozis tek taraflı spinal kas atrofisi, hidransefali, poreensefali, hidrosefali, serebellar hipoplazi ve mikromiyeli bulunur. Histopatolojik değişiklikler ise kuzu ve oğlaklarda hipokampusta, kuzu ve buzağularda miyofibriler hipoplazi olarak bildirilmiştir. (31)

Schmallerberg virüsü, Akabane virüsü ile yakından ilişkilidir. (32) Sığırlarda fetal Akabane virüsü enfeksiyonundan kaynaklanan konjenital anormallikler üzerine yapılan araştırmalar, enfeksiyonun gebeliğin 76 ila 104. günleri arasında meydana geldiğinde hidranensefali ve poreensefali geliştiğini göstermektedir. Enfeksiyonun 103 ila 174. günleri arasında artrogripoz

görüldüğü bildirilmektedir. Bu nedenle, Schmallerberg virüs'ünün neden olduğu lezyon tipinin değerlendirilmesi, saf bir sürüye enfeksiyonun bulaştığı zamanı tahmin etmede yararlı olabilir. Ancak, yakın zamanda ortaya çıkan bu hastalığı tam olarak karakterize etmek için saha vakalarından ve/veya deneysel enfeksiyonlardan daha fazla veriye ihtiyaç duyulmaktadır. (20)

2.2.2.4. Sığırların Viral Diyaresi / Mukozal Disease

Sığır viral diyare virüsü (BVDV), transplasental olarak veya enfekte sekresyonlarla kontamine olmuş materyalin solunması veya yutulması yoluyla bulaşan bir Pestivirüstür. (30) Akut enfeksiyonlu hayvanlar ateş, burun akıntısı, enterit ve lökopeni ile kendini gösterir. Gebeliğin 45 ila 175. günleri arasındaki enfeksiyon abort ile sonuçlanabilir; bununla birlikte, 70 ile 150. günler arasında sitopatik olmayan bir BVDV suşu ile enfeksiyondan sağ kurtulan fetüsler de gebelik genellikle persiste enfekte olur. Persiste enfekte olan hayvanlar büyük miktarlarda Sığır viral diyare virüsü saçarlar ve genellikle sığır viral diyare virüsü'ne karşı antikor üretmezler. Gebeliğin 150 ila 285. günleri arasında enfekte olan fetüsler genellikle virüsü temizleyebilir, normal şekilde gelişebilir ve sığır viral diyare virüsü'ne karşı prekoloztral nötralize edici antikorlar sergileyebilir. (14)

Sığır viral diyare virüsü, bireysel sığırlarda %40-90 ve sığır sürülerinde %28-66 oranında prevalansı olan, dünya çapında birçok ülkede endemik olan bir Flaviviridae pestivirüsüdür. (33) Gebe sığırların BVDV ile enfeksiyonu transplasental bulaşmaya ve gelişmekte olan fetüsün enfeksiyonuna neden olabilir. Duyarlı üreyen sürülerde BVDV'nin neden olduğu ekonomik zarar, esas olarak, 3 ana faktöre bağlı olan intrauterin enfeksiyonların sonuçlarıyla ilişkilidir; enfeksiyon sırasında fetüsün gebelik yaşı, enfeksiyonla ilgili organ sistemi, virüsün biyotipi, virülansı ve hedef hücre aralığı. Kalıcı enfeksiyonun yanı sıra, üreme sistemi enfeksiyonlarının diğer sonuçları arasında kürtaj, tekrar üreme olarak ortaya çıkan embriyonik veya fetal rezorpsiyon, konjenital olarak kusurlu yavrular, mumyalaşma ve normal buzağılar veya zayıf buzağılar olarak ortaya çıkan konjenital enfeksiyonlar yer alır. (34)

2.2.2.5. Bovine Herpes Virüs – 1 Enfeksiyonu (Enfeksiyöz Sığır Rinotrakeitisi, Enfeksiyöz Pustular Vulvovajinitis)

Sığır herpes virüsü 1 (BHV-1), solunum yolu ve genital enfeksiyonlara ve ayrıca düşüklere yol açabilen bir alfa herpes virüsüdür. (30) Bulaşma, üst

solunum, konjunktival veya genital sistem mukoza zarları, atık fetüsler veya genital bulaşma yoluyla gerçekleşir. Abortlar en yaygın olarak hastalığın genital formuyla değil solunum formuyla ilişkilendirilir. İneklerde ateş, iştahsızlık, kırmızı burun mukozası, öksürük ve konjunktivit olabilir ve ardından 15-64 gün içinde abort şekillenebilir. Abort genellikle gebeliğin 4 ile 8. ayları arasında gerçekleşir. Enfeksiyon ayrıca erken embriyonik ölüme de neden olabilir. (14)

Bu hastalık, sığırlarda görülen son derece bulaşıcı, akut ve latent seyirli viral bir enfeksiyondur. Sığırların bulaşıcı rinotrakeitisi, enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak genç hayvanlarda yemden yararlanma gücünde azalma ve ölümlere neden olur. Yetişkin hayvanlarda ise süt veriminde düşme, fertilité sorunları, abortus ve canlı ağırlık kaybı gibi önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalık hayvanda farklı bölgeleri etkileyebilir. Bölgeye göre üst solunum yolu semptomlarına, dişilerde sığırların bulaşıcı püstüler vulvovajinitisine ve erkeklerde de enfeksiyöz püstüler balanopostitise neden olur. (35)

2.2.3. Paraziter Abortus Nedenleri

2.2.3.1. Toksoplazmozis

Koyunlar, *Toxoplasma gondii* ile sporlanmış ookistlerle kontamine yemlerin yenilmesi yoluyla enfekte olurlar. Fetüs, parazitin alınmasından yaklaşık 14 gün sonra enfekte olabilir. Koyunlar asemptomatikken, <40 günlük gebelikte meydana gelen enfeksiyon embriyo rezorpsiyonu ile sonuçlanır. Gebeliğin 40-120. gününde enfeksiyon maserasyona, mumyalaşmaya veya düşüklere yol açarken, 120. günden sonraki enfeksiyon ölü doğum, zayıf veya sağlıklı kuzuların doğumuna neden olabilir. (14)

Toksoplazmoz, çok çeşitli sıcakkanlı hayvanları ve insanları etkileyen yaygın bir parazitik zoonozdur. Koyunlarda toksoplazmoz, düşüklerin, fetal malformasyonların, erken doğumların ve ölü doğumların başlıca nedenidir ve bu nedenle ciddi ekonomik kayıplara neden olur. (36)

2.2.3.2. *Neospora Caninum*

Neospora caninum, ikinci trimesterin erken döneminde düşüklere neden olabilen bir protozodur. (37) Enfekte inekler tekrar tekrar abort yapabilir. Organizmanın kesin konakçısı, doku kistlerini yutan köpektir. Daha sonra inek, köpek dışkıyla kontamine olmuş yem, su veya topraktaki sporlanmış ookistleri yutar. Takizoitler daha sonra fetüsü enfekte etmek için plasenta yoluyla bulaşabilir. Enfekte inekler asemptomatiktir. (14)

N. caninum hem süt hem de besi sığırlarında düşüklere neden olur. Düşükler, gebeliğin üçüncü ayından doğuma kadar epidemik veya endemik olarak gerçekleşebilir. N. caninum ayrıca yeni doğan buzağılarda ve 2 aylıktan küçük buzağılarda fetal canlılık bozukluklarına veya nörolojik doğum kusurlarına neden olabilir. N. caninum ile enfekte genç buzağılar nörolojik belirtiler, düşük doğum ağırlığı gösterebilir, ayağa kalkmada ve ayakta durmada güçlükler, arka ve/veya ön ayaklarda fleksiyon veya aşırı uzama ve bazı durumlarda egzozfalmi veya gözlerin asimetrik görünümü görülebilmektedir. Bununla birlikte, doğuştan enfekte olarak doğan buzağuların çoğu, klinik olarak sağlıklı hayvanlar olarak kalır. (38)

2.2.3.3. Sarkokistozis

Sarcocystis spp'nin sporokistleriyle enfekte su ve gıdalardan arakonak koyun ve keçiler etkeni alırlar. Zoonoz özelliindedir. Abortus ve ölü doğum dışında ataksi, arka bacaklarda zayıflık, paresis gibi merkezi sinir sistemi semptomları ve ölüm meydana gelebilmektedir. Keçilerde gebeliğin 75-105. günlerinde sporokistler ile enfekte olması abortus ve neonatal ölümlerle sonuçlanır. Enfeksiyon sonucu annede akut nekrotik endometritis şekillenirken, fötusun yumuşak dokularında çok sayıda nekrotik alan meydana gelir. Tanı ise non-suppuratif meningoensefalitis, yumuşak dokuda nekrotik alanların varlığı ve zootleri içiren kistlerin tespiti ile koyulur. (5)

2.2.4. Mantar Enfeksiyonundan Kaynaklanan Abortus Nedenleri

Mikotik düşüklere çeşitli küfler ve mayalar neden olabilir. (39) Hastalık sporadik olarak ortaya çıkar, genellikle hayvanlar içeride veya küçük ağıllarda barındırıldığında ve samanla beslendiğinde ortaya çıkar. Mantar patojenleri solunum veya gastrointestinal sisteme girebilir ve daha sonra sistemik dolaşıma erişebilir ve plasentomlara yayılabilir. Abortus genellikle gebeliğin 6 ila 8. ayları arasında gerçekleşir. Plasentitisler ve plasenta retensiyonu sık görülen olaylardır. (14)

Mikotik düşüklere genellikle sporadik üçüncü trimester düşüklere olarak ortaya çıkar. Klinik belirtiler, retensiyon dışında seyreklerdir. Plasentit birincil lezyondur, bu nedenle plasentanın muayenesi tanı için kritik öneme sahiptir. Genel olarak hem kotiledonları hem de interkotiledon plasentayı tutan ciddi bir plasentit vardır ve yaygın olarak kalınlaşmış, kösele gibi bir plasenta ile sonuçlanır. Kotiledonlarda yapışık kıkırdak dokusu ile nekrotik,

hemorajik enfarktler olabilir. Mantarlar çevrede her yerde bulunduğu için, varlıkları kontaminasyonun sonucu olabilir, bu nedenle mikotik düşük teşhisi, mantarların mikroskopik olarak gösterilmesine veya izolasyonuna ek olarak plasenta veya fetüste uyumlu lezyonlar gerektirir. (24)

3. Numune Alma, Tanı Yöntemleri, Hastalığın Tanısında Makroskopik ve Mikroskopik Bulgular

3.1. Numune Alma

Anne serum örnekleri ile birlikte bütün fötüs ve plasenta en uygun numunelerdir. Plasenta ilk etkilenen dokulardan olması nedeniyle bazı mikotik ve bakteriyel abortların tanısı için kritik olabilir. Bütün fötüs gönderilmesinin uygun olmaması nedeniyle tüm organların patolojik incelemeler için formalin ile fikse edilmesi gerekmektedir. Bakteriyel, viral, mikotik, paraziter ve toksikolojik incelemeler için taze akciğer, karaciğer, böbrek, plasenta, fötal sıvılar ve mide içeriğini içerecek şekilde tercih edilen numuneler gönderilmelidir (Tablo 3.1). Taze numuneler soğuk koşullarda ayrı steril kaplarda ve sıvı örnekleri kırmızı kapaklı vakumlu tüpler gibi steril tüpler içerisinde gönderilmelidir. (40)

Tablo 3.1. Fötal ve neonatal tanı için toplanan taze numuneler. (40)

Test	Saklama	Numuneler	Özel Toplama Notları
Bakteriyoloji/ Mikoloji (Kültür ve PCR için)	Buzdolabında muhafaza edin, dondurmayın	Mide içeriği, karaciğer, akciğer, beyin, plasenta	<ul style="list-style-type: none"> • Mide içeriğini geniş çaplı iğne uçlu enjektör ile alın. • Her bir numuneyi ayrı bir steril numune kabına koyun.
Viroloji (Vİ, PCR için)	Gerekir ise -70°C de dondurulabilir	Akciğer, karaciğer, böbrek, kalp, kan, plasenta	<ul style="list-style-type: none"> • Her bir numuneyi ayrı bir steril numune kabına koyun.
Beslenme, toksikoloji	Dondurulabilir	Karaciğer, böbrek, oküler sıvı	<ul style="list-style-type: none"> • Eğer mümkünse, eşleştirin (akut ve iyileşen)

3.2. Tanı Yöntemleri

Abort tanıları genellikle uğraştırıcıdır ve tanısal açıdan memnuniyet vermemektedir. Sürekli gelişmekte olan teknikler olmasına rağmen, fötal veya

neonatal ölümler için olası etkenlerin çok sayıda olması çoğu zaman teşhis uzmanını ve tanı laboratuvarının kesin tanıya gitmelerini zorlaştırmaktadır. Fötüs ve neonatal ölümler sayısal olarak artmaya başladığında, nedenin ortaya konulabilmesi için daha fazla çaba harcanmalıdır. Daha detaylı anamnez bilgisi elde etme, bir saha ziyareti planlama ve maternal serum, su ve yem numunelerini veya özel genetik çözümlü testleri kapsayan numune setlerinin toplanmasını içeren kapsamlı, eksiksiz ve sistematik bir yaklaşım ile teşhis uzmanının kesin bir tanıya ulaşmasında hiç olmadığı kadar iyi şansa sahip olmasını sağlar (Tablo 3.2.). (40)

Tablo 3.2. Etkene göre kullanılan tanı yöntemleri. (40)

Etkene göre	Kullanılan yöntem
Mikrobiyoloji	<ul style="list-style-type: none"> • Bakteriyel kültür • Gram boyama • Karanlık saha incelemesi • Floresan antikor boyama • Fungal kültür • PCR
Viroloji	<ul style="list-style-type: none"> • Hücre kültüründe virüs izolasyonu • Floresan antikor boyaması • İmmunohistokimya prosedürleri • PCR
Histopatoloji	<ul style="list-style-type: none"> • İmmunohistokimya prosedürleri • Giemsa boyama • PCR

3.3. Makroskopik ve Mikroskopik Bulgular

Birçok tanı laboratuvara gönderilen abortlarda geniş tanı testlerini içeren standardize tanı protokolleri kullanılmaktadır. Çünkü spesifik tanı testlerinin seçilmesi ve diğerlerinin elimine edilmesi için sadece makroskopik inceleme güvenilir değildir. Patognomik makroskopik lezyonlar nadiren görülür ve var olan herhangi bir lezyon otoliz nedeniyle kaybolabilir (Tablo 3.3, Tablo 3.4). (40)

Tablo 3.3. Sığır fötüslerinde makroskobik ve mikroskobik lezyonlar için muhtemel nedenler. (40)

Makroskobik lezyon	Nedenler
Fötal Mumifikasyon	BVDV, Neospora
Asites/Anasarka	Konjenital Kalp Defekti, BVDV, Neospora
Artrogripozis, Diğer İskelet Kası Deformasyonları	Akabane Virüs, Cache Valley Virüs, Uterus İçi Fötal Hareketin Azalması
Fibrinöz Peritonitis/Plöritis	Birçok Bakteri ve Mantar
Sarılık	Leptospirozis
Serebellar Hipoplazi	BVDV
Hidrocephalus, Hidranensefali, Porensefali	BTV, BVDV
Mikroftalmi	BVDV
Pulmoner/Renal Hipoplazi	BVDV
Dermatitis/Hiperkeratozis	Fungal, EBA
Multifokal Karaciğer Nekrozu	Listeria, BHV-1, Yersinia, Salmonella
Splenomegali/Lenfadenopati	EBA
Plasentitis, Enfarktüs	Fungal
Mikroskobik Lezyon	Nedenler
Ensefalitis	Neospora, BHV-1, BVDV
Meningitis	EBA, Leptospira, Brucella, Diğer Bakteriler
Myokarditis	Neospora, BVDV
İrinli Bronkopnömoni	Bakteriler
Bronkointersitisyel Pnömoni	Ureaplasma, Brucella
Multifokal Karaciğer Nekrozu	IBR, Listeria, Salmonella, Yersinia
İntersitisyel Nefritis	Neospora, Leptospira
Abomasitis/Enterokolitis	Bakteriler ve Mantarlar
Konjunktivitis	Bakteriler, Ureaplasma, Mantar
Plasentitis	Bakteriler, Mantarlar

Tablo 3.4. Koyun ve keçilerde fötüslerinde makroskobik ve mikroskobik lezyonlar için muhtemel nedenler. (40)

Plasental Lezyonlar (Makroskobik)	Nedenler
Kotiledoner irin ve interkotiledoner kalınlaşma ve irin	Brucella, Campylobacter, Coxiella, Chlamydophila ve diğer bakteriler
Kotiledoner nekroz, interkotiledoner bölgeler normal ya da sadece ödemli	Toxoplasma gondii, Sarcocystis spp.
Kotiledonların enfarktüs ve interkotiledonar kalınlaşma ve irin	Mikotik
Plasental Lezyonlar (Mikroskobik)	Nedenler
Vaskülitis	Chlamydophila, Campylobacter, Coxiella, Brucella
Trofablastlarda kolayca bakterilerin görülmesi	Coxiella, Campylobacter, Brucella
Plasental dokularda zoitlerin bulunması	Toxoplasma gondii, Sarcocystis spp.
Fötal Lezyonlar (Makroskobik)	Nedenler
Deri ve göz kapaklarında hiperkeratozis	Mikotik
Ayak duvarı ve soleasında kalsifiye plaklar (koyun)	Brucella ovis
Anormal tüy gelişimi/çok fazla tüylenme	Border disease virüs
Mumifiye fötüs	Border disease virüs, Mavidil virüs, Cache Valley virüs, Toxoplasma gondii
Siklops/kraniofasiyal malformasyonlar	Veratrum californicum
İskelet kas sistem lezyonları	Border disease virüs, Cache Valley virüs, Akabane virüs, Wesselsbron disease virüs, Lathyrus spp. bitkileri, Locoweed, Veratrum Californicum, Lupin, Tree Tobacco
Yeni doğanın körlüğü/retinal displazi	Mavidil virüs
Serozal yüzeylerin tamamında fibrin	Brucella, Campylobacter, Flexispira, Listeria, diğer bakteriler

Karaciğerde geniş multifokal nekroz alanları	Campylobacter, Flexispira
Karaciğer, adrenal bezler, böbrekler ve akciğerlerde küçük iğne başı büyüklüğünde nekroz	Chlamydomphila, Listeria, Francisella Tularensis, Caprine Herpesvirus
Geniş karaciğer nekrozu	Rift Vadisi humması virüs, Wesselsbron disease virüs
Serebellar hipoplazi	Border disease virüs, Cache Valley virüs, Akabane virüs ve diğer Bunyavirus türleri, Wesselsbron disease virus
Hidranensefali, poreensefali, hidrocefalus	Mavidil virüs, Border disease virüs, Akabane virüs, Cache Valley virüs ve diğer Bunyavirus türleri, Wesselbron disease virüs, Sarcocystis spp., N caninum
Rumen epitelyal hiperplazi/plaklar	Mikotik
Sarılık	Leptospira spp., Rift Vadisi humması virüs
Guatr	Brassica spp. bitkileri
Fötal Lezyonlar (Mikroskopik)	Nedenler
Nötrofilik ile pleosellüler pnömoni	Bakteriyel
Karaciğer geniş nekrotik alanlar	Campylobacter, Flexispira
Karaciğerde merkezde midzonal geniş nekroz	Rift Vadisi humması virusu, Wesselbron disease virüs, N. Caninum
Karaciğerde küçük nekroz odağı	Chlamydomphila, listeria, Francisella Tularensis, Salmonella, Herpesvirus
Portal lenfositik infiltrasyon	Coxiella burnettii
Böbrek, akciğer, karaciğer, adrenal bezde çoklu nekroz odaklarında intranükleer inklüzyonlar	Caprine herpesvirus
Lenfositik abomazal infiltratlar	Bakteriler
Demiyelinasyon	Border disease virus

4. Sonuç

Çiftlik hayvanlarında çeşitli etkenlere bağlı olarak şekillenmekte olan abortlar, sürü sağlığı ve sürünün devamlılığı açısından büyük öneme sahiptir, yetiştiriciler için ise ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Abortlar enfeksiyöz olmayan ve enfeksiyöz olan abortlar şeklinde 2 ana başlığa ayrılmaktadır. Enfeksiyöz olan abortların bazıları sadece hayvan sağlığını

tehdit etmek ile kalmaz aynı zamanda zoonoz özelliği ile insan sağlığını da tehdit eder. Bu nedenle sürüde herhangi bir abortus vakası görüldüğünde nedenin enfeksiyöz bir etken olabileceği unutulmamalıdır. Abort vakalarında gerekli muayene veteriner hekimler tarafından yapılmalı, dikkatli bir şekilde şüphe edilen etkene yönelik gerekli materyal alınmalı, uygun şartlarda resmi kuruluşlara iletilmeli ve etkene yönelik teşhis geciktirilmeden yapılmalıdır. Laboratuvar teşhisinin yapılarak etiyolojinin belirlenmesi önemlidir. Laboratuvar sonuçlarına göre hızlı bir şekilde gerekli koruyucu önlemler alınmalıdır. Alınan bu önlemler hem insan sağlığını hem de hayvan sağlığını kapsayacak şekilde olmalıdır.

Abort etkenleri süt endüstrisini de ilgilendirmektedir. Zoonoz karakterdeki abort etkenleri insan sağlığını tehdit etmekte süt ve süt ürünleri ile birçok insanın sağlığını riske sokmaktadır. Bu nedenle abort durumunda hiçbir ihtimal göz ardı edilmemelidir. Zoonoz bir etken olmadığı kesinleşmeden sağılan hayvanların sütü insan tüketimine sunulmamalıdır.

Kaynaklar

1. Kılıçarslan MR, Aydın M. Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (Eds), 2. Baskı, Malatya: Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti.; 2015:147
2. Şenünver A, Kılıçarslan MR. Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. In: Alaçam E (Eds), 7. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi Tıbbi Alet İlaç Kimyasal Mad. Gıda Sanayi İç ve Dış Ticaret Ltd. Şti.; 2010:131
3. Taşal İ, Bozkurt G. Koyunlarda Abort. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics 2015;1(3):11-7
4. Haif A, Khelifi-Ouchene NA, Khelifi M, Ouchetati I, Zeroual F, Ouchene N. Abortive diseases and their various associated risk factors in small ruminants in Algeria: a systematic review. Trop Anim Health Prod. 2021;53:1-14.
5. Ay SS. Küçük ruminatlarda abortus sorunu ve reproduktif aşılama programları. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics. 2017;3(2):129-36.
6. Doğan F, Dağalp SB. Sığırlarda viral nedenli abort olgularının etiyopatogenezi. Mehmet Akif Ersoy Univ Sağlık Bilim Enst derg. 2017;5(1):66-77.
7. Menzies PI. Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. Veterinary Clinics: Food Anim Pract. 2011;27(1):81-93.

8. Placinta CM, D'Mello JF, Macdonald AMC. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim Feed Sci Technol.* 1999;78(1-2): 21-37.

9. Yang C, Song G, Lim W. Effects of mycotoxin-contaminated feed on farm animals. *J Hazard Mater.* 2020;389: 122087.

10.Şentürk S, Maden M (2007). Adli Veteriner Hekimlik. <https://avys.omu.edu.tr/>. Erişim Tarihi 18 Şubat, 2023.

11. Öztürk Z. Gebelikte ilaç kullanımı ve risk değerlendirmesi: Beni kategorize etme. *Zeynep Kamil Med J.* 2018;49(1):109-112.

12. Kalender H, Erdoğan G. Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (Eds), 2. Baskı, Malatya: Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti.; 2015:535-545.

13. Yaeger MJ, Holler LD. Bacterial causes of bovine infertility and abortion. In *Current therapy in large animal theriogenology.* WB Saunders; 2007;389-399.

14. Givens MD, Marley MSD. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology.* 2008;70(3):270-285.

15. Mobini S. Theriogenology of sheep and goats. *Sheep and goat medicine.* 2002;129-186.

16. Çakır Ş, Yıldırım M. Türkiye'de küçük ruminantlarda brusellozun kontrol ve eradikasyon stratejileri. *Dicle Üniv Vet Fak Derg.* 2018;11(2):98-104.

17. Dorsch MA, Cantón GJ, Driemeier D, Anderson ML, Moeller RB, Giannitti F. Bacterial, protozoal and viral abortions in sheep and goats in South America: A review. *Small Rumin Res.* 2021;205:106547.

18. Underwood WJ, Blauwiekel R, Delano ML, Gillesby R, Mischler SA, Schoell A. Biology and diseases of ruminants (sheep, goats, and cattle). In *Lab Anim Sci.* 2015;623-694.

19. Hatipoğlu, F, Arslan Z. Marmara bölgesinde ruminantlardaki abort olgularında leptospirozisin levaditi ve immunohistokimyasal yöntemlerle teşhisi ve histopatolojik bulgularla karşılaştırılması. *J Vet Bio Sci Tech.* 2022;7(1):18-27.

20. Borel N, Frey CF, Gottstein B, Hilbe M, Pospischil A, Franzoso FD, Waldvogel A. Laboratory diagnosis of ruminant abortion in Europe. *The Veterinary Journal.* 2014;200(2):218-229.

21. Ellis WA. Animal leptospirosis. *Leptospira and leptospirosis,* 2015; 99-137.

22. Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In Current therapy in large animal theriogenology. WB Saunders; 2007:667-680.
23. Öztürk D, Türütoğlu H, Kaya M. Burdur İlindeki Koyunlarda Chlamydophila Abortus Enfeksiyonunun Seroprevalansı. MAEU Vet. 2016;1(2):17-20.
24. Anderson ML. Infectious causes of bovine abortion during mid-to late-gestation. Theriogenology. 2007;68(3):474-486.
25. Queiroz OCM, Ogunade IM, Weinberg Z, Adesogan AT. Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. J Dairy Sci. 2018;101(5):4132-4142.
26. Burnard D, Polkinghorne A. Chlamydial infections in wildlife–conservation threats and/or reservoirs of ‘spill-over’ infections? Vet Microbiol. 2016;196:78-84.
27. Kaiser V, Nebel L, Schüpbach-Regula G, Zanoni RG, Schweizer M. Influence of border disease virus (BDV) on serological surveillance within the bovine virus diarrhoea (BVD) eradication program in Switzerland. BMC Vet Res. 2016;13(1):1-13.
28. Braun U, Reichle SF, Reichert C, Hässig M, Stalder HP, Bachofen C, Peterhans E. Sheep persistently infected with Border disease readily transmit virus to calves seronegative to BVD virus. Vet Microbiol. 2014;168(1): 98-104.
29. Braun U, Hilbe M, Peterhans E, Schweizer M. Border disease in cattle. The Veterinary Journal. 2019;246:12-20.
30. Kelling CL. Viral diseases of the fetus. J Virol. 2007; 127.
31. Herder V, Wohlsein P, Peters M, Hansmann F, Baumgärtner W. Salient lesions in domestic ruminants infected with the emerging so-called Schmallenberg virus in Germany. Vet Pathol. 2012;49(4):588-591.
32. Hahn K, Habierski A, Herder V, Wohlsein P, Peters M, Hansmann F, Baumgärtner W. Schmallenberg virus in central nervous system of ruminants. Emerg Infect Dis. 2013;19(1):154.
33. Wathes DC, Oguejiofor CF, Thomas C, Cheng Z. Importance of viral disease in dairy cow fertility. Engineering. 2020;6(1):26-33.
34. Walz PH, Grooms DL, Passler T, Ridpath JF, Tremblay R, Step DL, Givens MD. Control of bovine viral diarrhoea virus in ruminants. J Vet Intern Med. 2010;24(3):476-486.
35. Alparslan S, Rişvanlı A. Frequency of infectious bovine rhinotracheitis in cows with repeat breeder breeding in Ergani district of Diyarbakir. Eurasian J Vet Sci. 2013;29(1):46-49.

36. Bártová E, Sedlák K, Literák I. Toxoplasma gondii and Neospora caninum antibodies in sheep in the Czech Republic. Vet Parasitol. 2009;161(1-2):131-132.

37. Abbitt B, Rae DO. Protozoal abortion in cattle. In Current therapy in large animal theriogenology. WB Saunders. 2007; 409-413.

38. Lefkaditis M, Mpairamoglou R, Sossidou A, Spanoudis K, Tsakiroglou M. Neospora caninum, a potential cause of reproductive failure in dairy cows from Northern Greece. Vet Parasitol Reg Stud Rep. 2020;19: 100365.

39. Walker RL. Mycotic bovine abortion. In Current therapy in large animal theriogenology. WB Saunders. 2007;417-419.

40. Njaa BL. Kirkbride's diagnosis of abortion and neonatal loss in animals (Kirkbride'in hayvanlarda abort ve neonatal kayıplarının tanısı). Çev: Okumuş B, Özgen EK., 4. Baskı, Malatya: Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti.; 2021:1-76.

BÖLÜM VI

KÖPEK MEME TÜMÖRLERİNDE GÜNCEL TANI YÖNTEMLERİ

Current Diagnostic Methods of Canine Mammary Tumors

Zeynep OCAKOĞLU¹ & Kudret YENİLMEZ²

¹(Dokt. Öğr.), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Veterinerlik Suni Tohumlama Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı,
Tekirdağ, Türkiye

e-mail: zeynepocakoglu@hotmail.com
ORCID:0000-0002-6111-7072

²(Dr. Öğr. Üyesi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye

e-mail:kyenilmez@nku.edu.tr
ORCID: 0000-0002-5532-0525

1. Giriş

Dişi köpeklerde en sık karşılaşılan neoplazilerden biri meme tümörleridir. İnsan ve köpeklerde akciğer ve deri kanserleri en sık görülme oranına sahipken meme tümörleri görülme sıklığı bakımından bu tümörleri takip eder. İnsanlardakine benzer gelişim ve klinik özellikler gösterdiğinden köpek meme tümörleri çalışmalar için ilgi uyandırmıştır (48).

Köpek meme bezi tümörlerinin nedenleri tam olarak bilinmemekle birlikte, en önemli nedenlerinin hormonal düzensizlikler, obezite ve genetik faktörler olduğu bildirilmiştir (55).

Dişi köpeklerde meme bezi tümörleri diğer tüm tümörlerin yaklaşık % 52'sini oluştururken, erkek köpeklerde meme tümörü görülme oranı % 1'dir. Östrus siklusundan önce kısırlaştırılan dişilerde meme kanseri riski yaklaşık %0.5, bir östrus geçirenlerde %8, iki ya da daha fazla östrus geçirdikten sonra kısırlaştırılanlarda %26 olarak bildirilmiştir (2, 55).

Bu derlemede, veteriner jinekolojide sık karşılaşılan köpek meme tümörlerinin güncel teşhis yöntemlerinin özetlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Köpeklerde Memenin Morfolojisi

Meme tümörlerinde tanı, teşhis ve tedavi gibi tüm süreçlerin en iyi şekilde yönetilebilmesi için meme bezi yapısını iyi bilinmesi gerekmektedir (68, 88).

Sadece memelilerde bulunan ve subkutanöz apokrin ter bezlerinden modifiye olan meme bezleri interlobuler bağ doku tarafından loblara ayrılır. Köpeklerde; torakal, abdominal ve inguinal bölgede olmak üzere karşılıklı 10 adet (Bazen 8-12 adet) meme lobu vardır. Dizilişleri bilateral iki torasik, iki abdominal ve bir inguinal şeklindedir (37).

Her meme lobu korpus mamma adı verilen bez kısmı ve papilla mamma denilen meme başı kısımlarından oluşur. Meme bezi paranzim (Alveoller), stroma, kanallar, sinirler ve damarlardan oluşur. Sekretorik aktiviteye bağlı olarak meme alveolleri basit kübik ya da kolumnar sekretorik epitel şeklinde olabilir. Bu epitel, kontraktil özelliğiyle sütün indirilmesini sağlayan miyoepitelle çevrenmiştir. En dışta da bazal lamina yer alır. Loblar arası kanal sistemi laktiferöz kanallara, bunlar da laktiferöz sinusa bağlanır. Bu sinuslar da duktus papillaris vasıtasıyla memenin dışına bağlanan meme başı sinusuna açılır. Meme başları küt ve kalındır, en uçlarında ostium papillare'ler bulunur. Meme başı duvarı musculus sfinkter papilla, bağ dokusu ve deri kısımlarından oluşur. (37)

Fibröz ve adipöz dokuya gömülü halde olan meme bezi alveollerden başlayıp duktal kanallar sonrası meme ucundan toplayıcı kanallar ile sonlanan bir yapı gösterir. Gelişimi puberte ile başlar, her östrus siklusunda morfolojik değişimler gösterir (27). Memenin tam gelişimi sadece yetişkin dişilerde, gebelik sırasında, duktal epitel hücre proliferasyonu ve lobuloalveolar farklılaşma ile gerçekleşir (67). Başlangıçta sadece büyük kanalları (meme başından mezenkimal dokuya kısa bir mesafe gösteren) gelişmiş olan memede, pubertada yumurtalıktan östrojen salınımı ile birlikte kanalların terminal uçlarında (terminal uç tomurcukları) hücre proliferasyonu aktive olur. Diöstrus ve gebelik sırasında artan progesteron seviyesi kanalların daha fazla gelişmesini, lobüllerin ve alveollerin (lobuloalveolar birim) oluşumunu tetikler. Prolaktin etkisi altında alveolar hücreler salgı yapan hücrelere farklılaşır, bunun sonucunda meme bezi salgı yapan duktal-lobular-alveolar yapıya dönüşür (27).

2. Etiyoloji

Köpeklerde meme bezi tümörlerin şekillenmesinde etkili olduğu düşünülen birçok faktör vardır. Bu faktörler; beslenme, çevresel faktörler, bazı hormonlar, siklus bozuklukları, immunolojik faktörler ve genetik yatkınlık gibi multifaktöriyel durumlar şeklinde sıralanabilir (77). Steroid hormonlar ve prolaktin hormonlarındaki düzensizliklerin köpek meme tümörleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (71). Benign ve malign meme bezi tümörlerine sahip köpeklerde büyüme hormonu düzeylerinde artış bildirilmiştir (57). Östrus siklusunu kontrol etmek, önlemek veya yalancı gebelikleri tedavi etmek amacıyla kullanılan eksojen östrojen ve progesteron kombinasyonları (Medroksiprogesteron asetat) meme tümörü gelişimini tetiklemektedir. Progesteron tedavisi gören köpek ve kedilerde meme tümörlerine, hiç tedavi edilmemiş olanlara göre daha sık rastlanmaktadır. Bu maddeler dikkatli şekilde, minimum dozlarda kullanıldıkları zaman genellikle benign yapıda tümörler oluşabilmekteyken; yüksek ve tekrarlanan dozları ile malign transformasyon oluşumu indüklenebilmektedir, bu nedenle dikkatli kullanılmaları gerekmektedir (52). Hormonların neoplazik hücrelere yol açarak, genetik mutasyonlarla birlikte hücre proliferasyonunu indükledikleri veya kanserojenler tarafından değiştirilmiş olan hücrelerde proliferasyona sebep oldukları belirtilmektedir (19).

Ovariektomi uygulanan dişi köpeklerde diyete dikkat edilmemesi durumunda genç yaşta obez olmasına bağlı olarak meme tümörü gelişimi dolaylı yoldan etkilenebilmektedir (1).

Meme tümörü gelişiminde çevresel faktörlerin etkileri de söz konusudur. Doğada özgürce yaşayan hayvanlarla, ev ve hayvanat bahçesi gibi kısıtlı alanlarda ve şehirlerde yaşayan hayvanlar kıyaslanmış, bunun sonucunda sınırlı alanda yaşayan hayvanların, özgür olanlara oranla meme tümörü geliştirme olasılığının daha yüksek olduğu bulunmuştur (59). Meme tümörü gelişiminde bireysel risk faktörleri olarak; cinsiyet, ırk ve yaş gibi özellikler karşımıza çıkmaktadır (85). Benjamin ve ark. (8) 1999 yılında yaptıkları geniş çaplı araştırmada Beagle ırkı tüm dişi köpeklerde meme tümörü görülme insidansını yaklaşık % 71 olarak bulmuşlardır. Meme tümörlerine, melez ırklara oranla saf ırklarda daha sık rastlanmakta ve meme tümörleri küçük ırk köpeklerde (Fox Terrier, Yorkshire Terrier, Maltese, Beagle vb.), büyük ırk köpeklere oranla daha sık ortaya çıkmaktadır (1, 85, 88).

Meme bezi tümörlerinin gelişim insidansı yaşla birlikte artmakta, çoğunlukla 9-11 yaş aralığında ortaya çıkmaktadır. Beş yaşından önce gelişen tümörlerin büyük çoğunluğu benign karakterde seyrederken, altı yaşından sonra şekillenen kitlelerde malign karakter artışı görülmektedir (1).

3. Tanı

Köpek meme tümörleri (CMT'ler) ve insan meme kanseri (HBC'ler) arasındaki biyoloji ve fizyopatoloji arasındaki büyük benzerlik, hastalığın tekrarlama riski ve diğer organlara, örneğin akciğerler veya karaciğere metastaz varlığı, bunlar arasında karşılaştırmalı çalışmalar yapma olasılığına yol açar. Moleküler özelliklerin yanı sıra histolojik yapıdaki bu benzerlikler nedeniyle CMT'ler, HBC çalışmaları için bir model olarak kabul edilir (42). CMT'lerin yaklaşık %50-70'i maligndir ve en yaygın türleri adenokarsinomdur. (Papiller karsinom, katı karsinom, kompleks karsinom ve karsinosarkom). Malign olmayan meme tümörleri çoğunlukla duktal papillomlar, iyi huylu mikst tümörler, basit adenomlar ve fibroadenomlardır.(78).

Köpek meme tümörleri (CMT'ler), yaşlı dişi köpeklerde ciddi bir klinik problem olarak kabul edilir. Yüksek malignite oranı ve kötü prognoz nedeniyle erken tanı önemlidir. CMT'nin doğru teşhisi, çok çeşitli bir tümör grubunu temsil ettikleri için özellikle önemlidir ve bu nedenle farklı tedavi yaklaşımları gerekebilir.

3.1. Köpeklerde Meme Tümörlerinin Sınıflandırılması

Histopatolojik derecelendirme yöntemi çeşitli histolojik meme tümörüne sahip köpeklerde sınıflandırmaya yardımcı olan ve prognoz hakkında önemli bilgi veren, kullanışlı, tanısız bir metottur (66).

Köpek meme tümörlerinin tanımlamasındaki üç önemli terim; basit, kompleks ve miksttir. Basit terimi tümörün luminal epitelyal ya da miyoepitelyal olmak üzere tek tip hücreden oluştuğunu belirtir. Tümör hem luminal epitel hem de miyoepitel hücrelerden olmak üzere iki tip hücreden oluşmuşsa kompleks terimi kullanılır. Luminal epitel ya da miyoepitellerin yanında tümör bağ doku elementleri de içeriyorsa mikst tümör olarak adlandırılır (27).

Köpeklerde meme tümörleri geniş histolojik spekturuma sahiptirler ve evcil hayvan meme tümörlerinin histopatolojik sınıflandırılması ilk olarak 1974 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından yayımlanmıştır. Goldschmidt ve ark. (26) tarafından bu yayın revize edilerek, Veteriner Patolojisi Dergisi'nde yeniden yayımlanmıştır.

Meme tümörlerinin histopatolojik olarak sınıflandırılması (26).**Benign neoplazmalar**

1. Basit adenoma
2. İntraduktal papiller adenom
3. Duktal adenom (basaloid adenom)
 - Skuamöz değişimli duktal adenoma (keratohyaline granules)
4. Fibroadenom
5. Myoepiteliyom
6. Kompleks adenoma (adenomyoepiteliyom)
7. Benign miks tümör

Hiperplazi/displazi

1. Duktal ektazi
2. Lobuler hiperplazi (adenosis)
 - a. Düzenli
 - b. Salgı aktivitesi ile (laktasyonel)
 - c. Fibrozlu–interlobuler fibröz bağ doku
 - d. Atipili
3. Epiteliyozis
4. Papillomatöz
5. Fibroadenomatöz değişiklik
6. Jinekomasti

Malignant epitelial neoplazmalar

1. Basit karsinom
 - a. Tubuler
 - b. Tubulopapiller
 - c. Kistik-papiller
 - d. Kribriform
2. İn situ karsinom
3. İnvaziv mikropapiller karsinom
4. Anaplastik karsinom
5. Komedo karsinom

6. Solid karsinom
7. Kompleks adenom/karışık tümörden köken alan karsinom
8. Kompleks tip karsinom
9. Karsinom ve malignant miyoepitelyom
10. Miks tip karsinom
11. Duktal karsinom–duktal adenomun malign muadili
12. İntraduktal papiller karsinom– intraduktal papiller adenomun malign

Malignant epitelial neoplazmalar - özel tipler

1. Skuamöz hücreli karsinoma
2. Adenoskuamöz karsinom
3. Müsinöz karsinom
4. Sekretör karsinom
5. İğsi hücreli karsinom
 - a. Malignant myoepitelyom
 - b. Skuamöz hücreli karsinomun–iğsi hücreli varyantı
 - c. İğsi hücre varyantlı karsinom
6. İnflamatuar karsinom

Malignant mezenşimal neoplazmalar – sarkomlar

1. Osteosarkom
2. Kondrosarkom
3. Fibrosarkom
4. Hemanjiyosarkom
5. Diğer sarkomlar

3.2. Klinik Bulgular

Meme bezi tümörlerinin tanısında klinik bulgular izlenecek ilk yoldur. Ancak, klinik görünümde neoplazmanın şekli, boyutu, yangı ve ülserasyon gibi bulgular malignitenin belirtileri olmasına karşın, sadece bu bulgulara bakarak benign veya malign ayrımı yapmak doğru değildir. Meme bezi hiperplazileri, displazileri, adenomları, karsinomları değişken morfolojik yapıya sahip olduğundan zaman zaman bu ayrımı yapmakta zorluk çekilmektedir (5).

Klinik bulguların başında anemnez bilgisinin alınması ile risk faktörlerinin (hormonal geçmiş, yaş, obezite) ne kadar eşlik edip etmediğini belirlemek

önemlidir. Meme bezi tümörleri çoğunlukla hasta sahibinin severken fark etmesi veya klinikte rutin muayene sırasında veteriner hekimin fark etmesi ile rastgele tespit edilmektedir.

Muayene sırasında hayvanın genel klinik durumu değerlendirilir. Veteriner hekim tarafından, hayvanın tıbbi geçmişi, üreme döngüsü (östrus, doğum sayısı, ovariohisterektomi, hormon tedavisi, kürtaj ve yalancı gebelik öyküsü), lezyonların hayvan sahibi tarafından ilk ne zaman fark edildiği ve varsa önceki tümör ile ilgili bilgiler öğrenilmelidir (13).

Erken tespit edilen çoğu vaka başlangıçta klinik olarak sağlıklıdır. Klinik belirtileri kısa sürede ortaya çıkan vakaların ise daha agresif tümör yapısında olduğu ve dolayısıyla prognozunun daha kötü seyrettiği bildirilmiştir (1). Klinik bulgular tümörün karakterine ve hangi aşamada olduğuna bağlı olarak değişim göstermektedir. Meme bezi tümörleri köpeklerde bir veya birden fazla sayıda bulunabilir, fazla sayıda olan kitleler tek bir lopta veya farklı loplarda, farklı boyutlarda olabilir (8).

Meme tümörlerinin klinik görüntüsü, kitlenin benign veya malign karakteri hakkında ipuçları verir. (37)

Benign tümörler

- Deri altında kolayca hareket ederler
- Yavaş gelişir
- Sınırları belirgin, etrafı fibröz kapsülle çevrilidir
- Yangı semptomları yoktur
- Genel durumu etkilemezler, yaşam boyunca varlığını tehlikesiz olarak sürdürür

- Malign tümörler
- Sınırları düzensizdir
- Ülserleşme gösterebilirler
- Çevre dokulara invaze olur
- Hızlı gelişir
- Metastaz kabiliyeti yüksektir
- Genel durumu bozabilir.

Klinik evreyi belirlemek tümörün yayılımının tanımlanmasını sağlar ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) köpek meme tümörleri için oluşturduğu TNM sistemine göre belirlenir.

Meme tümörlerinin klinik derecelendirme (TNM) sistemi

Tümör (T)	Lenf nodülü (N)
T0 Primer tümör belirtisi yok	N0 Bölgesel lenf yumrusuna metastaz yok
T1 Tümör çapı < 3cm	N1 İpsilateral lenf nodülüne metastaz
a: Çevre dokulara bağlantı yok	a: Alt dokuya fikse değil
b: Deriye infiltrasyon	b: Alt dokuya fikse
c: Kas dokuya infiltrasyon	N2 Bilateral lenf nodülüne metastaz
T2 Tümör çapı 3-5cm	a: Alt dokuya fikse değil
a: Çevre dokulara bağlantı yok	b: Alt dokuya fikse
b: Deriye infiltrasyon	
c: Kas dokuya infiltrasyon	Uzak metastaz (M)
T3 Tümör çapı > 5cm	M0 Diğer organlarda metastaz yok
a: Çevre dokulara bağlantı yok	M1 Diğer organlarda metastaz var
b: Deriye infiltrasyon	
c: Kas dokuya infiltrasyon	
T4 > 5cm boyutta yangısal tümör	

Tümörlerin histolojik olarak derecelendirilmesi

	T	N	M
Stage I	T1 a, b veya c	N0; N1 a veya N2 a	M0
Stage II	T0	N1	
	T1 a, b veya c	N1	
	T2 a, b veya c	N0 veya N1 a	
Stage III	T3'ün hepsi	N hepsi	
	T hepsi	Nb hepsi	M0
Stage IV	T hepsi	N hepsi	M1

Tümör boyutu, köpeklerde meme kanseri için bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilir. 3.0 cm (T1) veya daha küçük boyutlu tümörler, daha büyük tümörlere kıyasla daha iyi prognoz ile anlamlı şekilde ilişkiliyken 5.0 cm'den (T3) büyük lezyonların çoğunun malign olduğunu ve daha yüksek proliferasyon gösterdiğini gözlemlenmiştir (21).

Klinik muayeneye ek olarak tanıda, hemogram ve biyokimyasal parametrelerin analizi, radyografi, ultrasonografik muayene, bilgisayarlı tomografi, manyetik 11 rezonans görüntüleme, termografik inceleme, elektrokardiyografik ve histopatolojik incelemeler yapılabilmektedir (85).

Herhangi başka bir sağlık problemi olmayan köpeklerde hemogram ve biyokimya parametreleri çoğunlukla normal sınırlar içerisinde tespit edilmektedir. Ancak malign meme bezi tümörüne sahip köpeklerde kan tablosunda değişiklikler söz konusu olabilmektedir (52).

3.3. Köpek Meme Tümörlerinde Biyobelirteçler

Biyobelirteçler, kanda ya da dokularda ölçülebilen, bir hastalığın varlığı, seyri ve prognoz için bilgi veren proteinlerdir (31, 56). Kanser riskini belirlemek, erken teşhis, tanı, hastalığın tekrarlanması veya ilerleme durumunu gözlemlemek için tümör biyobelirteçleri kullanılır (79). Maligniteleri makroskopik değişiklikler görülmeden önce saptamak için serum ve doku biyobelirteçlerinin değerlendirilmesi de düşünülmelidir.

Kanser hücrelerinin her biri, tümör ile ilişkili antijenler olarak isimlendirilen spesifik proteinleri ifade eder. Bu antijenler, tümörlü hastalarda, diğer dokularda, serumda ya da idrarda normal konsantrasyonundan farklı bir konsantrasyonda saptanırsa biyobelirteç olarak adlandırılır (31, 56). Bir tümör belirteci, tümöre yanıt olarak tümörün kendisi veya konak tarafından üretilir (38). İdeal tümör belirteci erken tanıya ve taramaya yardımcı olmak için spesifik ve duyarlı olmalıdır. Bu duyarlılık ve özgüllük biyobelirteçlerin klinik yararlarını belirler (79).

Birkaç biyobelirteç tek bir tümöre spesifik olabildiği gibi çoğu biyobelirteç aynı doku tipindeki farklı tümörler tarafından üretilir. Kanserli hastaların kanında veya kanser dokusunda daha yüksek oranda olsa da sağlıklı hücrelerde de bulunabilirler ve kanda düşük seviyelerde bile olsa ölçülebilirler (4). Biyobelirteçlerden bazıları ise benign tümörlerde, tümör olmayan yangısal hastalık durumlarında artış gösterir (43).

CMT'nin doğru teşhisi, çok çeşitli bir tümör grubunu temsil ettikleri için özellikle önemlidir ve bu nedenle farklı tedavi yaklaşımları gerekebilir. Bu amaçla serum ve/veya tümör dokusunda değerlendirilebilen spesifik biyobelirteçler kullanılmaktadır. Bu ölçüm sadece neoplastik süreci doğrulamakla kalmayıp aynı zamanda tedavi ve prognoz değerlendirilmesine de yardımcı olabilir. İnsan tıbbında, biyobelirteçler HBC teşhisinde önemlidir. Birçok biyobelirteç, hem CMT'lerde hem de HBC teşhislerinde doğrulanmıştır.

3.3.1. Hücre Döngüsü Belirteçleri

Hücre siklusu ve regülasyonu, embriyogenez, büyüme, üreme, yetişkin dokularının uygun fonksiyonu ve tümör oluşumu gibi birçok süreç için gereklidir (16, 53). Büyüme faktörlerinin aşırı ekspresyonu veya baskılayıcı

proteinlerin eksikliği, tümör görünümüne izin veren hızlı, kontrolsüz hücre bölünmesinin bir nedeni olabilir. Siklinler ve sikline bağımlı kinazlar (CDK), aktive olduklarında hücre döngüsü boyunca kompleksler oluşturarak ve hücre döngüsü boyunca ilerlemeyi katalize ederek hücre döngüsü regülasyonunda ana rol oynarlar (53). Siklin D ailesi, 3 D tipi siklin içerir: D1, D2 ve D3, iki tip CDK ile ilişkilidir: CDK4 ve CDK6. Bu siklinlerin aşırı ekspresyonu, hızlı hücre büyümesine, önemli hücresel kontrol noktalarının atlanmasına ve neoplastik bir sürece neden olur (70). Siklin D1'in aşırı ekspresyonu, yaygın olarak HBC hastalarında metastaz ve daha kısa yaşam beklentisi ile ilişkilidir (76). Ayrıca, CMT'lerde siklin D1'in aşırı ekspresyonu, preneoplastik lezyonların %60'ında ve neoplastik lezyonların %44'ünde meydana gelir (82).

Siklin E, CDK2 kinazı ile birlikte S-fazı, DNA replikasyonu, G0 indüksiyonu ve onkojenik transformasyonu indüklemeye önemli bir rol oynar (58). Siklin E, HBC'lerde prognostik faktör olarak önerilmektedir ve sitoplazmik siklin E ekspresyonunun kötü prognoz ile korele olduğu düşünülmektedir. Şimdiye kadar hem siklin D1 hem de E, yalnızca hücresel belirteçler olarak kullanılmıştır (33).

3.3.2. Proliferasyon Belirteçleri

Yaygın olarak kullanılan hücre proliferasyon belirteçlerinden biri antijen Ki-67'dir (Ki-67). HBC gelişiminde, Ki-67'nin ifadesi, kanserin ilerlemesi ile pozitif olarak ilişkilidir (63). Prognozu belirlemede sık kullanılan bir biyobelirteçtir. Ki-67, sadece hücre bölünmesinin interfaz evresinde ve mitoz bölünme sırasında hücre çekirdeğinde belirlenebilmektedir. Hücre döngüsünün G1 fazında saptanır, S ve G2 fazlarında ise miktarı artar. En yüksek miktarlara M fazında ulaşır ve mitoz bölünme bitiminin ardından ortadan kalkar (71). Tümörlü köpeklerde serum seviyeleri tümör dereceleri ile pozitif korelasyon gösterirken, sağlıklı köpeklerin serumunda bulunmazlar. Benign tümörlerdeki miktarı, malign tümörlere göre daha azdır. Yüksek Ki-67 seviyesi, metastaz, kötü prognoz ve kötü hayatta kalım ile ilişkilidir (61). Büyük tümör boyutu, inflamasyon ve ülserasyon, invazyon ve lenf yumruları metastazı olan tümörler, en yüksek Ki-67 miktarlarına sahiptir (61).

Hücre nükleer antijeni (PCNA), hem jinekolojik hem de androlojik sağlık sorunlarında yaygın olarak kullanılan başka bir biyobelirteçtir (6). Agresif tümörlü bezlerle çevrili normal meme bezlerinde artmış bir PCNA indeksi kaydedilmiştir. PCNA, CMT'lerde karsinosarkomlar için önemli bir teşhis faktörü olarak kabul edilmektedir (6).

Human epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER 2) de dikkate değer bir tümör belirteçidir. Hücre çoğalması ve farklılaşmasının uyarılmasından sorumlu bir glikoproteini kodlayan bir protoonkogendir. Karsinogenez sırasında, tümör gelişimini ve farklılaşmasını düzenler. CMT'nin yaklaşık %30'unda ve benzer şekilde HBC'de de gösterilmiştir. (14).

Kadınlarda HER-2'nin aşırı ekspresyonu, yüksek tümör agresifliği, sitotoksik ve endokrin tedavilere yanıt eksikliği ve genel olarak sağkalım süresinin azalmasıyla güçlü bir şekilde bağlantılıdır. Bununla birlikte, HER-2, hastalığın erken evrelerinde aşırı eksprese edilirse, mükemmel bir terapötik hedef olarak kullanılabilir. Hedefe yönelik bir ilaç olan trastuzumab, HBC tedavisinin erken evresinde genellikle kemoterapi ile birleştirilir. Benzer şekilde köpeklerde insanlarda olduğu gibi HER-2'nin kısa hasta sağkalımının bir belirteci olduğu düşünülmektedir. Ancak, tüm çalışmalar bu ifadeyle aynı fikirde değildir. HER-2'nin köpeklerde tümör proliferasyonunda rol oynadığı, ancak mutlaka malign transformasyonda rol oynamadığı öne sürülmüştür (14).

İnsan ve köpek HER-2 antijenleri arasındaki doğrulanmış benzerlik nedeniyle, trastuzumab veya setuksimab ile immünoterapi, HER-2 ekspresyonu ile CMT'de etkili bir şekilde kullanılabilir. Bu alanda hala daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (84).

3.3.3 Apoptoz Belirteçleri

Programlanmış hücre ölümü proteini-1 (PD-1), yapı ve fonksiyon benzerliği nedeniyle CD28 ailesinde sınıflandırılan bir onkogendir (74). Maekawa ve ark. (49) köpek meme tümörlerinin %80'inin PD-L1 ekspresyonunu gösterdiğini buldu, ancak prognoz ile korelasyon belirsizliğini korumaktadır. PD-L1 ekspresyonu, çok sayıda köpek malign melanom örneğinde de gösterilmiştir. Ek olarak, PD-1'in ligandları (PD-L1 ve PD-L2) ile etkisi, tümöre infiltrat olan lenfositlere gönderilen negatif sinyallerin yoğunlaşmasına neden olur. Bu gerçekler nedeniyle, PD-1/PD-L1 blokajı, immünoterapide çok uygun görünmektedir. Mevcut araştırma, PD-1 ve PDL-1'in köpek tümörlerinde biyobelirteçler olarak yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (49).

Hem insanlarda hem de hayvanlarda, P53 ana tümör baskılayıcı genidir. Fizyolojik olarak, p53 seviyesi düşük veya saptama sınırının altındadır. Aktive edilmiş p53, organizmada kanser oluşumunu önleyen apoptozu veya hücre döngüsü durmasını etkileyebilir (96, 97). p53'ün üçlü negatif meme kanserinden muzdarip hastalarda yararlı bir biyobelirteç olabileceği öne sürülmüştür ve yüksek p53 ekspresyonunun kötü prognoz ile pozitif bir korelasyona sahip

olduğu kanıtlanmıştır (62). Veteriner hekimlikte de p53 yüksek ekspresyonu ile kanser oluşumu arasındaki korelasyon dikkate alındı ve büyük cins köpeklerde daha yüksek p53 ekspresyonu kaydedildi. Bu da bazı ırk yatkınlıklarını düşündürmektedir (40). Brunetti ve ark. (10), p53, ER ve Ki67'nin CMT'nin biyolojik davranışını tahmin etmek için kullanılabileceğini öne sürdüler ve p53'ün daha yüksek proliferatif aktivite ve CMT'lerin daha yüksek histolojik derecesi ile ilişkili olduğunu gösterdiler.

3.3.4 Tümörün Metastatik Potansiyeli ve Prognuzu İle İlgili Biyobelirteçler

Bir diğer önemli biyobelirteç grubu, tümörün metastatik potansiyelini gösterenlerdir. Tümörün metastaz yapma yeteneği, hücrenin birbirine veya komşu dokulara yapışmasına bağlıdır. Bu bağlantıların gücü, bu işlemlerde yer alan proteinlerin ifade seviyeleri ile ölçülür. İntegrinler, selektinler, immünoglobulin benzeri partiküller ve kaderinler gibi çeşitli tipte adezyon molekülleri vardır.

3.3.4.1. Kaderinler

Kaderinler, hücre-hücre adezyonlarından sorumlu olan bir transmembran glikoprotein grubudur. Başlıca işlevleri, bir dokunun fizyolojik yapısını korumaktır. Bununla birlikte, bu adezyonların disfonksiyonu karsinogenez sırasında da rol oynayabilir. En sık incelenen kaderin, epitelyal hücresel adezyonda yer alan epitelyal-kadherindir (E-kadherin). Yaygın kadenin türleri α , β ve p-120'dir. En yaygın kadenin, sitoplazmik bir protein olan ve karsinogenez sırasında dejenerasyonunun bozulması, tümör hücrelerinin sitoplazmasında ve çekirdeğinde birikmesine yol açan β -kadenin'dir (36).

İnsan tıbbında, daha düşük E-kadherin ekspresyonu, daha yüksek bir tümör histolojik derecesine karşılık gelir ve kötü hastalık sonucunu gösterir. CMT'lerde, benzer şekilde, E-cadherin ekspresyonunun aşağı regülasyonu, artan tümör büyümesi ve hastalık yayılması, tümör malignitesi, metastazların agresifliği ve kısa yaşam beklentisi ile bağlantılıdır (47).

3.3.4.2. Karsinoembriyonik antijen (CEA)

Karsinoembriyonik antijen (CEA), hücre içi adezyonda yer alan bir glikoproteindir. Epitel hücre zarlarında bulunur ve kolon, meme ve akciğer kanserlerinde seviyeleri artabilir. İnsan tıbbında CEA hala en güvenilir kanser belirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir (45). Kandaki CEA düzeylerinin,

insanda meme kanseri metastazlarının varlığının yanı sıra tedaviye geri bildirim ile bir ilişkisi olduğu da gösterilmiştir. Ayrıca CEA seviyelerinde artış, hastalığın erken nüksünü ve metastazını da gösterebilir (65). Son zamanlarda köpeklerde yapılan birkaç çalışma, köpek dokularında CEA düzeylerini belirlemiştir. Bu hayvanlarda, insanlarda olduğu gibi hem CMT'li köpeklerde hem de sağlıklı köpeklerde serum CEA seviyeleri saptanmıştır ancak köpeklerde CEA serum değerleri insandakine oranla yaklaşık on kat daha küçüktür (12).

CEA, çeşitli teşhis teknikleri kullanılarak hem serum hem de doku örneklerinde ölçülebilir. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, karsinomlu dişi köpeklerde CEA serum düzeylerinin sağlıklı olanlara göre nispeten daha yüksek olduğunu göstermiştir. Mastektomi sonrası CEA seviyelerinin büyük ölçüde azalması, CEA'nın erken nüks ve metastazların iyi bir biyobelirteci olabileceğini düşündürmüştür. CEA'nın belirlenmesi, yalnızca CA 15-3 ile birlikte değerlendirildiğinde güvenilir olmakta ve hem insanlarda hem de köpeklerde erken kanser teşhisinde uygun olabilmektedir. Ancak bu alan daha fazla araştırmaya ihtiyaç duymaktadır (80).

3.3.4.3. Kanser antijeni (CA 15-3)

Kanser antijeni aynı zamanda mucin 1 geninin bir ürünü olan bir transmembran glikoproteindir. CA 15-3, tedaviyi kontrol etmek için güvenilir bir biyobelirteç olarak kabul edilir ve etkileri HBC'lerin nükslerini ve metastazlarını doğrulamaktadır. Lenf nodülünün durumu, tümörün boyutu ve hastalığın evresi gibi belirli neoplastik özelliklerle pozitif bir korelasyona sahiptir. Köpek meme kanserlerinde CA 15-3 tayini ile ilgili üç araştırma grubu tarafından yapılmış sadece birkaç çalışma vardır. Araştırmalar, CA 15-3'ün tümör derecesi ile pozitif bir korelasyona sahip olduğunu göstermiştir ve CA 15-3'ün serum konsantrasyonları, derece II ve III karsinomlarda, derece I karsinomlara göre daha yüksek görülmüştür (50).

Daha önce bahsedildiği gibi, CA 15-3'ün teşhis duyarlılığını ve özgüllüğünü artırmak için CEA gibi diğer biyobelirteçlerle aynı anda belirlenmesi tavsiye edilir. CA 15-3 hasta takibi ve nüks tanısı için iyi bir belirteç gibi görünmektedir fakat Köpek meme tümörlerinde umut verici bir biyobelirteç olmasına karşın daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (93).

3.3.5. Hormon Reseptörleri

Köpek meme tümörlerinde hormon reseptörleri, şüphesiz en çok çalışılan belirteçlerdir. Köpeklerde cinsel hormonlar (östrojen ve progesteron), üreme

sistemi ve meme bezi gibi birçok dokunun büyümesinde ve gelişmesinde etkilidir. Her iki hormon da karsinogenezde yer alır. Çoğu CMT'nin ER (östrojen reseptörü) ve/veya PR'yi (progesteron reseptörü) eksprese ettiği gösterilmiştir. Prolaktin veya oksitosin gibi diğer hormonların da tümör büyümesi sürecinde yer aldığı bulunmuştur (39). Kadınlarda olduğu gibi köpeklerde de birçok çalışma ER veya PR ekspresyonunun malign olmayan tümörlerde daha yaygın olduğunu ve genellikle daha iyi klinik sonuçlarla bağlantılı olduğunu kanıtlamıştır. Son zamanlarda yapılan bir çalışma, yüksek serum östrojen seviyelerine ve/veya ER+ tümörlere sahip dişi köpeklerin mastektomi sırasında kısırlaştırıldıklarında metastaz olmadan daha uzun bir süreye sahip olduklarını da göstermiştir (89). Şaşırtıcı bir şekilde, bir çalışmada, artan serum östrojen, progesteron ve testosteron seviyeleri, tümör nüksü ve/veya uzak metastazlar ve daha kısa hastalısız dönemler ile ilişkili bulunmuştur (72). Ayrıca, başka bir çalışmada ER- ve PR+ tümörler, ER+ ve PR+ tümörlere göre daha kötü bir prognozla bağlantılıydı ve ER- ve PR- tümörler, hepsinin en kötü prediktif faktörüne sahipti (39). Yeni bir belirteç olan progesteron reseptörü membran bileşeni 1 (PGRMC1), köpek adenomları ve karsinomlarının yanı sıra sağlıklı köpek meme bezi dokularında incelenmiştir. Araştırmacılar, PGRMC1 ekspresyonunun, malign dokulardaki ekspresyonun aksine, sağlıklı meme bezi dokularında ve iyi huylu tümörlerde yükseldiğini ortaya koydu. Oksitosin sözü konusu olduğunda, yakın tarihli bir çalışma, iyi huylu tümörlerin, kötü huylu tümörlere göre daha yüksek oksitosin reseptörü (OTR) ekspresyonuna sahip olduğunu göstermiştir. Bu da, OTR'nin hücrel farklılaşmanın iyi bir belirteci olabileceğini düşündürmektedir (7).

Köpeklerin normal meme dokuları %95 oranda östrojen ve progesteron reseptörlerini veya her ikisini birden içerir ve köpek meme tümörlerinin yarısından fazlasında östrojen ve progesteron reseptörleri bulunur (92). Östrojen reseptörleri, meme bezinin gelişimi ve işlevi için oldukça önemlidir. Aynı zamanda meme bezi tümörlerinin gelişimine ve ilerlemesine de sebep olmaktadır (18). Östrojen pozitif tümörlerin hayatta kalımı, östrojen negatif tümörlere göre daha yüksektir (10, 41). Normal meme bezi dokusu, displazi ve benign meme tümörlerinde ER seviyeleri, malign meme tümörlerine göre daha yüksektir (34)

Meme bezi gelişimi ve büyümesi için progesteron önemli bir hormon olmasına karşın, meme tümörleri oluşma riskini de arttırmaktadır (87). Steroid reseptörlerinin miktarları, önemli prognostik faktörlerdendir (17). Progesteron reseptörleri, meme bezi tümörlerinde hormonal yanıt ve prognozu belirlemede kullanılan bir biyobelirteçtir. Progesteron reseptörü negatif

tümörler, pozitif olanlar ile karşılaştırıldığında daha kötü prognozludur (15, 24, 28, 60). Hiperplazi, fibroadenomatöz değişiklik ve in-situ karsinomlarda progesteron reseptörü oranları, malign tümörlere göre daha yüksektir. Ayrıca, benign tümörlerde, normal meme dokusuna göre daha yüksek miktarlarda PR bulunur (54).

Hem HBC hem de CMT’de ER ve PR çok iyi prognostik belirteçler olmaya devam etmektedir ve tedavi seçiminde bunların belirlenmesi önerilmektedir. Kadınlarda HBC durumunda anti-östrojen ilaçlarla (tamoksifen) tedaviler önerilir ve CMT tedavisinde de uygulanabilir. Bununla birlikte anti-östrojenik ilaçlar köpeklerde pyometraya neden olabileceğinden ovariohisterektomi önerilir. Tamoksifenin CMT’de uygulanması ve klinik etkileri halen araştırılmaktadır (90).

3.3.6. Metabolomik Belirteçler

Metabolomik, biyolojik numunelerdeki düşük moleküler ağırlıklı metabolitlerin (<1500 Da) kapsamlı ve sistematik bir şekilde tanımlanması ve miktarının belirlenmesi olarak tanımlanır ve metabolom, hücre, doku, organ veya organizmada bulunan tüm metabolitlerin bir kümesidir. Metabolomik alanı geliştiği için tümörlerle ilgili çalışmaların sayısı da artmıştır (3). Veteriner hekimlikte metabolomik araştırmalar halen sınırlıdır ve farklı kanserlere odaklanan sadece birkaç çalışma yapılmıştır. Çok yakın tarihli bir çalışmada, CMT hastalarının idrarında üç triptofan metaboliti, 5-hidroksiindolasetik asit, serotonin, indoksil sülfat ve kinurenik asit, iki tirozin metaboliti, 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin ve epinefrin örneklerinde daha yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. Bu nedenle, tirozin ve triptofan metabolitleri, CMT’lerde faydalı biyobelirteçler olarak önerilmiştir (94).

3.3.7. Gen İfadesi

İnsan meme kanserinde, gen ekspresyonu analizi, prediktif ve prognostik faktörler olan yeni biyobelirteçlerin tanımlanması için en değerli tanı araçlarından biridir (29). Ayrıca meme tümörlerinin histopatolojik sınıflandırmasının tamamlanmasına olanak sağlar. Ek olarak, kanserin gen ifadesinin incelenmesi, kesin tedavi değerlendirmesine izin veren kişiselleştirilmiş tıp çağına giden bir yoldur. Benzer bir değerlendirme, özellikle köpeklerde bu tür tümörün karmaşıklığı dikkate alındığında, köpek meme tümörü yönetimini büyük ölçüde iyileştirecektir (69).

Küresel gen ifadesi profili, veterinerlik tıbbında gelecekteki bir yöndür. Farklı derecelerdeki (I, II ve III) köpek meme kansinomlarında, tümörün biyolojik davranışı üzerinde etkisi olan beş gen (SEHRL, ZFP37, MIPEP, RELAXIN ve MAGI3) tanımlanmıştır. 1.699 genin diferansiyel olarak eksprese edildiği yakın tarihli bir çalışmada, HYAL-1 geninin aşırı ekspresyonunun, hücre büyümesi, göçü, invazyonu ve anjiyogenez ile bağlantılı olası bir biyobelirteç olduğu kabul edilmiştir (95). Ek olarak, son araştırmalar, DNA onarımında yer alan köpek BRCA2'nin insanlarda olduğu kadar önemli bir belirteç olduğunu düşündürmektedir. CMT'li köpeklerin %97,9 ' unda yediden üçe kadar genetik varyasyon vardır, bu nedenle düşük BRCA2 ekspresyonu, meme tümörü büyümesinde rol oynar. Bununla birlikte, meme neoplazmalarındaki kesin mutasyonlar ve bunların mekanizması hakkında sınırlı bilgi mevcuttur. BRCA2 gibi bazı gen mutasyonlarının, köpeklerde gelecekte kanser gelişimi için yatkınlığın tahmin edilmesinde faydalı olabileceği düşünülmektedir. Köpek genomu ve belirli mutasyonlar hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. (22).

3.3.8. *miRNA*

İnsan onkolojisindeki yeni biyobelirteçler, mikroRNA'lar (miRNA) adı verilen küçük kodlanamayan RNA molekülleridir. miRNA'lar serum, idrar ve anne sütü gibi biyolojik sıvılarda salgılanabildikleri için özellikle iyi biyobelirteçler oluştururlar. Bu nedenle, örneklerin toplanması düşük invazivdir. İnsan meme kanserinde, en umut verici biyobelirteçlerden biri, hücre proliferasyonunu ve metastazı teşvik eden miR-21'dir (35). Ek olarak, miRNA ekspresyon düzeyi, tümör hastaları için metastatik potansiyeli ve prognozu gösterebilir. miR-21, CA 15-3 gibi yaygın olarak kullanılan diğer belirteçlerden daha duyarlı olduğundan gelecekte kullanılabilecek ümit veren önemli bir serum biyobelirteçidir (73).

MiRNA'lar kanser teşhisi için umut verici belirteçlerdir. Birden çok miRNA tabanlı profil, meme tümörlerinin prognozunu ve metastatik potansiyelini tahmin etmeye de izin verebilir. Bununla birlikte, köpeklerde miRNA analizi ile ilgili çalışmalar hala eksiktir.

3.3.9. *Transkriptom Dizileme*

Son zamanlarda, birçok CMT çalışması, tümörjenez ile ilişkili çeşitli biyolojik süreçleri yukarı regüle eden spesifik genleri bulmak için transkriptom analizine odaklanmıştır. Bir çalışmada, CMT'de 351 diferansiyel olarak eksprese

edilen gen (DEG'ler) tanımlanmıştır. Bu DEG'lerden sekizi daha önce HBC'de kanserle ilişkili genler olarak belirtilmişti. Elde edilen kapsamlı veriler, özellikle dişi köpeklerde neoplastik sürecin kadınlara göre nispeten daha kısa sürdüğü dikkate alındığında, köpek ve kadın meme kanserleri arasındaki karşılaştırmalı onkolojik çalışmalarda kullanılabilir (46).

3.3.10. Enflamatuvar Belirteçler

3.3.10.1. Enflamatuvar Hücre Sızması

Tümörler genellikle hücrenin hayatta kalmasına, göçüne ve insan meme kanserinin invazyonuna müdahale eden inflamatuvar hücreler tarafından infiltre edilir. Tümöre sızan makrofajlar (TIM'ler), tümöre immun sızan mikroçevrede en çok bulunan bağışıklık hücrelerinden biridir. İnsanlarda, daha yüksek bir TIM yoğunluğu, bazı tümör tiplerinde daha kötü klinik seyir ve diğerlerinde kötü prognoz ile ilişkilidir (81). Köpek meme bezi tümörlerinde de bağışıklık hücrelerinin özellikleri iyi bir prognostik faktör gibi görünmektedir (64). Ek olarak, lenfosit infiltrasyonu da klinik sonuçların tahmin edilmesiyle ilişkilidir. HBC'lerde, T hücreleri kesinlikle tümörün ilerlemesinde yer alır. Bazıları, özellikle T düzenleyici hücreler (Treg'ler), özel durumlarda tümör bağışıklığı için yararlı olabilecek bağışıklık bastırıcı özelliklere sahip olabilir (23).

3.3.11. Diğer Enflamatuvar Doku ve Kan CMT Belirteçleri

Hem insan hem de köpek çalışmalarında, meme tümörlerinde siklo-oksijenaz-2 (COX-2) aşırı ekspresyonu, kanser ve hastalık ilerlemesinin ayırt edici özelliklerinden biridir. COX-2 ekspresyonunun, anjiyogenez ve hücre proliferasyonunu indükleyerek, metastazı ve tümörle ilişkili enflamasyonu teşvik ederek meme tümörü oluşumunu etkilediği belgelenmiştir (98).

Spesifik proteinler, CMT biyopsisinden daha az invaziv ve bazen daha hassas olan kanda ölçülebilir. Bağışıklık sistemi, daha hızlı köpek meme tümörü tanımlamasının potansiyel biyobelirteçleri olan, tümörle ilişkili otoantijenlerin düşük, genellikle saptanamayan seviyelerine yanıt verir (11).

Akut faz proteinleri (APP'ler), homeostazdaki herhangi bir rahatsızlık tarafından değiştirilen spesifik olmayan inflamasyon belirteçleridir. Köpeklerde ana APP'ler C-reaktif proteindir. Serum CRP konsantrasyonu, benign tümörleri olan köpekler ve kontrolünün aksine, malign ve metastatik tümörleri olan köpeklerde önemli ölçüde daha yüksektir. Ancak CRP, 3 cm'den küçük tümörler için yeterince iyi bir belirteç değildir. Bu nedenle, CRP'nin muhtemelen sadece

ileri aşamalarda kullanılabileceğini düşünülmektedir. Unutulmamalıdır ki, pyometra gibi diğer patolojik ve yangısal durumlar da serum konsantrasyonunda bir artışa neden olur. Bu nedenle, bu biyobelirteç çok spesifik değildir (91).

3.4. Ultrasonografik Muayene

CMT'lerde klinik evreleme, tümörlerin ve bu tümörleri drene eden lenf düğümlerinin değerlendirilmesini içerir. Non-invaziv teşhis hem insan hem de veteriner hekimliğinde önemli bir gereklilik olduğundan, B-mod ultrason, Doppler tekniği, kontrastlı ultrason (CEUS) ve gerçek zamanlı elastografi gibi ve mevcut ultrason teknikleri giderek daha popüler hale gelmektedir (86).

Benign karakterli meme tümörleri; Ultrasonda yuvarlak veya oval, düzgün hiperekojenik kapsüllü, çevre dokudan belirgin bir şekilde ayrılmış olarak izlenir. Genellikle anekojenik lateral bir artefakt gösterirler. Bazen içerisinde çeşitli büyüklükler kistik alanlar görülür (51).

Malign karakterli meme tümörleri; Ultrason görüntüsü poliformdur. En karakteristik özellikleri sınırlarının düzensiz olması ve çevre dokulara infiltrasyondur. Heterojen bir paransim izlenir. Anekojenik veya hiperekojenik distal artefakt görülebilir (51).

İki boyutlu B-mode ultrasonografi ile yapılan çalışmalar, veteriner hekimlikte malign ve benign meme tümörlerini sınıflandırmanın mümkün olmadığını göstermiştir. Buna karşılık, Marquardt ve ark. çevre dokunun şekli, boyutu, anekojenik alanları ve ekojenitesi gibi B mod ultrasonografik görüntüleri histolojik bulgularla karşılaştırmış ve bazı ultrasonografik parametrelerin malign tümörleri sınıflandırmada önemli bir rolü olabileceğini, ancak düşük maligniteli tümörleri teşhis etmenin imkansız olduğunu belirlemiştir (51). Daha fazla güvence elde etmek için daha ayrıntılı incelemeler gereklidir. Köpek meme tümörlerinin farklı değişikliklerinin ayırt edilebilirliğinin iyileştirilmesi, rafine edilmiş ve geliştirilmiş ultrasonografik inceleme teknolojileri ile sağlanabilir (31).

3.5. Radyolojik Tanı

Meme tümürlü bütün köpeklerin metastaz varlığını değerlendirmek için, radyografi, bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR) gibi diagnostik görüntüleme yöntemlerinden yararlanılmalıdır. Akciğerler, meme tümörü olan köpeklerde uzak metastaz bakımından en yaygın organdır ve metastazlarının belirlenmesi için üç görüntülü toraks radyografisi günümüzde en sık kullanılan

görüntüleme yöntemidir. Radyografide, çapı 6-8 mm arasındaki akciğer odakları belirlenebilir. 4 mm kadar küçük çapta olan metastazları belirlemek için BT gereklidir. Ancak çapı 0,5 cm' den az olan küçük metastazlar bu yöntemler ile tespit edilemez (25).

3.6. Sitoloji

Sitolojik muayene, dokunun yapısı ile ilgili olmaksızın bireysel olarak hücrelerin incelenmesi şeklinde tanımlanabilir. Histopatolojik inceleme, CMT tanısında anahtar bir tanı yöntemi olarak kabul edilsede, sitolojik inceleme (sitoloji, sitopatoloji, CP) basit, uygun maliyetli, kullanımı kolay, nispeten invaziv olmayan ve sonuç vermede hızlı olması gibi çeşitli avantajlar sunar. Avantajlarına rağmen bu tekniğin en yaygın iki dezavantajı doku mimarisinin olmaması ve örnek almanın zorluğudur. Sitolojinin tanısal doğruluğu %25 ile %93 arasında değişmektedir. Duyarlılık ve tanısal doğruluk oranları, aspirasyonların bir patoloğ tarafından gerçekleştirildiği ve en az dört aspirat örneği toplandığı durumlarda daha yüksek olmaktadır. İnce iğne aspirasyon sitolojisi (İİAS) ve diğer sitolojik tekniklerin veteriner hekimlikte kullanımı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır (83).

Meme tümörü olan kadınlarda klinik eksplorasyon ve mamografi ile birlikte ince iğne aspirasyon sitolojisi (İİAS), tanı için yapılan ameliyat öncesi işlemlerin önemli ve vazgeçilmez bir parçasıdır. İnsan tıbbındaki çeşitli araştırmalar, meme tümörlerinde malignitenin saptanmasında sırasıyla %65-96 ve %83-100'lük bir duyarlılık ve özgüllük göstermiştir. İnsan tıbbında meme tümörlerinden elde edilen yetersiz örnek oranı %2 ile %42 arasında değişmektedir. Ancak veteriner literatüründe sitolojinin köpek meme tümörlerinin tanısında kullanımına ilişkin yayınlanmış çalışma sayısı azdır (13, 30, 83).

CMT'lerin sitolojik incelemesinde kullanılan ince iğne aspirasyon biyopsi tekniği

Tek kullanımlık 5 ml'lik bir şırıngaya bağlı bir 22-G iğnesi, hayvanların sakinleştirilmesinden sonra hedef meme lobuna sokulur. Şırıngaya tam aspirasyon uygulanır ve iğne ileri geri ve farklı yönlerde hareket ettirilir. İğne geri çekilmeden önce negatif basınç serbest bırakılmalıdır. Aspire edilen materyal lam üzerine bırakılır ve havada kurutulur. Son olarak May-Grünwald - Giemsa boyası ile boyanarak incelenir.

CMT'lerde kitlenin sitolojik muayenede iyi huylu bir tümör olarak teşhis edilmesi durumunda cerrahi yaklaşımın ertelenebileceği önerilebilir ancak bu

önerinin yalnızca ciddi sağlık sorunları olan köpeklerde uygulanması doğru olur. Bunun sebebi dişi köpekteki iyi huylu tümörlerin zamanla kötü huylu tümörlere dönüşebiliyor olmasıdır. Ayrıca sitoloji prognozu öngörmeye yeterli bilgi vermeyebileceğinden, biyopsi sonucu elde edilmiş olsa bile cerrahi olarak çıkarılan dokuların histopatolojik olarak incelenmesinin gerekliliği hayvan sahiplerine bildirilmelidir (75).

Veteriner hekimler ciddi klinik sorunları olan bir köpeğe mastektomi uygulamak veya ertelemek konusunda genellikle zor seçimlerle karşı karşıya kalırlar. Hayvan sahipleri de bazen cerrahi bir yaklaşım için onay vermeden önce ameliyat öncesi teşhis isteyebilir. Operasyon öncesi sitolojik inceleme yapılması prognozu değerlendirmek için bir teşhis aracı olarak görülür. Fakat açık nedenlerle histopatolojinin kesin tanı için güçlü, tartışılmaz bir önemi vardır ve CMT'lerin prognozuna odaklanan sınırlı sayıda sitopatolojik çalışma nedeniyle fazla araştırma yapılması gerekmektedir (83).

3.7. Histopatoloji

En güvenli tanı yöntemi, eksizyonel veya insizyonel biyopsilerin histopatolojik olarak incelenmesidir. Histopatolojik inceleme, lezyon sınıflandırmasını kolaylaştırmanın yanı sıra deri, yumuşak doku ve çevreleyen kan damarlarının infiltrasyonunu, tümörün histomorfolojisine ilişkin ayrıntıların (pleomorfizm varlığı veya yokluğu, farklılaşma derecesi, mitotik indeks, nekroz varlığı veya yokluğu) değerlendirmesine olanak tanır (21).

Miyoeptelyal/bazal hücre tabakasının bütünlüğünün değerlendirilmesi, kadınlarda meme kanseri tanısı için önemli bir kriterdir. İn situ ve invaziv malign lezyonlar arasında ayırıcı tanıya yardımcı olur, özellikle mikroinvazyon noktalarının saptanmasında faydalıdır. Veteriner hekimlikte tümör histogenezinin belirlenmesine yönelik araştırmalarda ağırlıklı olarak alfa düz kas aktin, S-100, calponin, p63 ve maspin gibi miyoeptelyal belirteçler kullanılmaktadır. Ancak invazyonun belirlenmesinde yardımcı araç olarak kullanımları sınırlıdır ve az sayıda çalışmada ele alınmıştır (9).

Meme tümörü olan köpeklere tanı amaçlı yaklaşımda anamnez ve detaylı fiziksel muayeneden sonra cerrahi biyopsi, tipik olarak eksizyonel biyopsi önerilebilir. Biyopsi, histopatolojik tanı için doku sağlar ancak cerrahi müdahale yöntemini değiştirmeyeceği için histopatolojik değerlendirmenin operasyondan sonra yapılması daha uygun olmaktadır. (87).

3.7.1. Histolojik Derecelendirme

Meme kanserinin histopatolojik derecelendirmesi, neoplazmanın yapısını ve çekirdeğin morfolojik varyasyonlarını değerlendirmeyi amaçlar ve tümör agresifliği ile önemli bir korelasyon sunar (20). Şu anda insan tıbbında en yaygın kullanılan derecelendirme sistemi, tümörün genel görünümü ile tümör farklılaşma derecesi tahmin edildiğinde önceki öznel değerlendirmelerin yerini alan, Elston CW ve Ellis IO (20) tarafından değiştirilen Nottingham'dır. Nottingham yöntemi, faktörlerin daha objektif kriterler kullanılarak sistematik olarak değerlendirilmesine olanak tanır. Bu sisteme göre histolojik derecenin belirlenmesi tübül oluşum indeksinin değerlendirilmesine dayanmaktadır (20).

Elston CW ve Ellis IO'e göre meme kanserinin histolojik derecelerinin özeti (20)

Özellik	Skor
Tübül oluşumu	
Tümörün %75'inden fazlası tübüllerden oluşur	1
%10 ile %75 arasında tübüller oluşumlar	2
Tübüller tümörün %10'unu veya daha azını kaplar	3
Nükleer pleomorfizm	
Küçük ve düzenli çekirdekler	1
Çekirdeklerin boyutunda ve varyasyonunda orta derecede artış	2
Boyut ve şekilde büyük farklılıklar gösteren belirgin pleomorfizm	3
Mitoz sayısı (HPF) *	
0-8 mitoz / 10 HPF	1
9-16 mitoz / 10 HPF	2
40x lenste 17 mitozun üzerinde / 10 HPF	3

Tümörün histolojik derecesi, 3 ila 9 arasında değişen toplam miktarla sonuçlanan skorların toplamından elde edilir.

Tümör derecelerinin özeti: Derece I: 3-5 puan. Derece II: 6-7 puan. Derece III: 8-9 puan.

Anaplazi derece arttıkça artar. Histolojik derece, kadınlarda birincil meme kanseri için bağımsız bir prognostik gösterge olarak kabul edilir.

Veteriner hekimlikte, meme tümörleri için iyi tanımlanmış kriterlere sahip derecelendirme sistemleri sıklıkla kullanılmamaktadır (44). En popüler olanlardan biri Misdorp W (55) sistemi olup, hücresel ve nükleer özelliklerin kombinasyonuna dayalıdır. Son zamanlarda, köpeklerde meme karsinomlarını değerlendirmek için Nottingham tarafından önerilen histolojik derecelendirme kriterlerini benimseyen veteriner araştırmacılarının sayısı artmıştır. Bu çalışmalar histopatolojik derecelendirme ile histolojik tip ve sağkalım gibi diğer prognostik faktörler arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle, Nottingham sistemi tarafından belirlenen ve Elston CW ve Ellis IO, (20) tarafından modifiye edilen tümörlerin histolojik derecelendirmesi, insan onkolojisinde olduğu gibi veteriner tıbbına dahil edilebilecek mantıklı bir aracı temsil eder.

4. Sonuç

Günümüzde dişi köpeklerde en sık karşılaşılan neoplazilerden biri meme tümörleridir ve özellikle yaşlı dişi köpeklerde ciddi bir klinik problem olarak kabul edilir. Yüksek malignite oranı, metastaz ve kötü prognoz nedeniyle erken ve doğru teşhis çok önemlidir. Günümüzde köpek meme tümörlerinin doğru tanısı, tedavi protokolünün ve prognozun belirlenmesinde son derece önem arz etmektedir. Bu nedenle güncel teşhis yöntemlerinin iyi bilinmesi ve kullanılması gerekmektedir.

Kaynaklar

1- Alenza MP, Pena L, Castillo ND, Nieto AI. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *J Small Anim Prac.* 2000; 41(7): 287-291.

2- Argyle DJ, Brearley MJ, Turek, MM. *Decision Making in Small Animal Oncology.* USA: John Wiley Sons; 2009.

3- Armitage EG, Ciborowski M. Applications of metabolomics in cancer studies. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017; 965: 209–234.

4- Ayamo AA, Kuria JG. Clinical application of tumour markers: A Review. *East African Med J.* 2009; 86(12): 76-83.

5- Aydoğan A. Köpek Meme tümörlerinin tanısında histopatolojik ve İmmunohistokimyasal incelemeler (Ph.D. Thesis). Adnan Menderes Üniversitesi; 2010.

6- Aydogan A, Ozmen O, Haligur M, Sipahi C, Ileri D, Haligur A. Immunohistochemical evaluation of bcl-2, ER-alpha, caspase -3, -8, -9, PCNA and Ki-67 expressions in canine mammary carcinomas. *Biotech Histochem.* 2018; 93: 286–292.

7- Benavente MA, Bianchi CP, Aba MA. Expression of Oxytocin receptors in canine mammary tumours. *J. Comp. Pathol.* 2019; 170: 26–33.

8- Benjamin SA, Lee AC, Saunders WJ. Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in beagles. *Vet. Pathol.* 1999; 36(5): 423-436.

9- Bertagnolli AC, Cassali GD, Genelhu MCLS, Costa FA, Oliveira JFC, Gonçalves PBD, Immunohistochemical expression of p63 and Np63 in mixed tumors of canine mammary glands and its relation with p53 Expression. *Vet. Pathol.* 2009; 46: 407-415.

10- Brunetti B, Bacci B, Angeli C, Benazzi C, Muscatello LV. p53, ER, and Ki67 expression in canine mammary carcinomas and correlation with pathological variables and prognosis. *Vet. Pathol.* 2021; 58: 325–331.

11- Bujak JK, Szopa IM, Pingwara R, Kruczyk O, Krzeminska N, Mucha J, Majchrzak-Kuligowska K, The expression of selected factors related to T lymphocyte activity in canine mammary tumors. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(7): 2292.

12- Campos LC, Lavallo GE, Estrela-Lima A, Melgaço de Faria JC, Guimaraes JE, Dutra AP, Casalli GD. CA15.3, CEA and LDH in dogs with malignant mammary tumors. *J. Vet. Int. Med.* 2012; 26(6): 1383–1388.

13- Cassali GD, Gobbi H, Malm C, Schmitt FC. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human. *Cytopathology.* 2007; 18(3): 191-196.

14- Clavijo-Maldonado A, Ferreira E, Vargas-Hernández C, Rivera Páez FA, Canine mammary cancer: clinical implications with specific focus on the HER-2 gene. *Vet. Stanica.* 2020; 51(4): 425–439.

15- Cork DM, Lennard TW, Tyson-Capper AJ. Alternative splicing and the progesterone receptor in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2008; 10(3): 1-8.

16- DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.* 2008; 7(1): 11–20.

17- De Las Mulas JM, Millán Y, Dios RA. Prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor and progesterone receptor

expression and host and tumor factors as predictors of disease-free period in mammary tumors of the dog. *Veterinary Pathology*. 2005; 42(2): 200–212.

18- Diaz LK, Sneige N. Estrogen receptor analysis for breast cancer: current issues and keys to increasing testing accuracy. *Advan in Anat Pathol*. 2005; 12(1): 10-19.

19- Donnay I, Rauis J, Wouters-Ballman P, Devleeschouwer N, Leclercq G, Versteegen JP. Receptors for oestrogen, progesterone and epidermal growth factor in normal and tumorous canine mammary tissues. *J Rep Fertil Supp*. 1993; 47: 501-512.

20- Elston CW, Ellis IO, Assessment of histological grade. Elston CW, Ellis IO, (Ed.). *Systemic Pathology The Breast*. London: Churchill Livingstone. 1998; 365-384.

21- Ferreira E, Bregunci GC, Schnitt FC, Cassali GD. Protocol for the anatomopathological examination of canine mammary tumors. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2003; 55: 105-109.

22- Fish EJ, Irizarry KJ, DeInnocentes P, Ellis CJ, Prasad N, Moss AG, Bird RC. Malignant canine mammary epithelial cells shed exosomes containing differentially expressed microRNA that regulate oncogenic networks. *BMC Cancer*. 2018; 18: 832.

23- Franzoni MS, Brandi A, Prado JKDOM, Elias F, Dalmolin F, Lainetti P, Fonseca-Alves CE. Tumor-infiltrating CD4+ and CD8+ lymphocytes and macrophages are associated with prognostic factors in triple-negative canine mammary complex type carcinoma. *Res. Vet. Sci*. 2019; 126: 29–36.

24- Geraldles M, Gärtner F, Schmitt F. Immunohistochemical study of hormonal receptors and cell proliferation in normal canine mammary glands and spontaneous mammary tumours, *Vet. Record*. 2000; 146: 403–406.

25- Gobello C, Corrada Y. Canine mammary tumors: an endocrine clinical approach, *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*. 2001; 23: 705-710.

26- Goldschmidt M, Pena L, Rasotto R, Zappulli V. Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet. Pathol*. 2011; 48(1): 117-131.

27- Goldschmidt M, Pena L, Zappulli V, Tumors of the Mammary Gland. In: Donald J. Meuten (Ed), *Tumors in Domestic Animals*. 5th Ed. John Wiley & Sons, Inc, California. 2017; 723-764.

28- Graham JC, O’Keefe DA, Gelberg HB. Immunohistochemical assay for detecting estrogen receptors in canine mammary tumors, *American J Vet Res*. 1996; 60: 627–630.

- 29- Guler EN. Gene expression profiling in breast cancer and Its effect on therapy selection in early-stage breast cancer. *Eur J Breast Health*. 2017; 13(4): 168.
- 30- Hazıroğlu R, Yardımcı B, Aslan S, Yıldırım MZ, Yumusak N, Beceriklisoy H, Agaoglu R, Kucukaslan I. Cytological evaluation of canine mammary tumours with fine needle aspiration biopsy technique. *Rev Med Vet*. 2010; 161(5): 212–218.
- 31- Henry JC. Biomarkers in veterinary cancer screening: applications, limitations and expectations, *The Veterinary Journal*. 2010; 185(1): 10–14.
- 32- Hitzer U. Untersuchungen zur sonographischen darstellung der primären multiplizität von caninen mammatumoren. Dissertation, Berlin, 2000.
- 33- Hunt KK, Karakas C, Ha M.J, Biernacka A, et al. Cytoplasmic cyclin E predicts recurrence in patients with breast cancer. *Clin. Cancer Res*. 2017; 23(12): 2991–3002.
- 34- Inaba T, Takahashi N, Matsuda H, Imori T, Estrogen and progesterone receptors and progesterone metabolism in canine mammary tumours, *The Japanese J Vet Sci*. 1984; 46(6), 797-803.
- 35- Jeong SJ, Lee KH, Nam AR, Cho JY. Genome-wide methylation profiling in canine mammary tumor reveals miRNA candidates associated with human breast cancer. *Cancers*. 2019; 11(10): 1466.
- 36- Kaszak I, Witkowska-Piłaszewicz O, Niewiadomska Z, Dworecka-Kaszak B, NgosaToka F, Jurka P, Role of cadherins in cancer—a review. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21(20): 7624.
- 37- Kırşan İ, Canooğlu E, Köpek ve Kedilerde Meme Hastalıkları In: *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları* Ed: Kaymaz, M, Fındık, M, Rişvanlı, A, Köker, A, Medipres Matbacılık, Malatya. 2016; 317-345.
- 38- Kilpatrick ES, Lind MJ. Appropriate requesting of serum tumour markers. *BMJ Journals*. 2009; 339.
- 39- Kim NH, Lim HY, Im KS, Shin JI, Kim HW, Sur JH. Evaluation of clinicopathological characteristics and oestrogen receptor gene expression in oestrogen receptor-negative, progesterone receptor-positive canine mammary carcinomas. *J. Comp. Pathol*. 2014; 151(1): 42–50.
- 40- Klopffleisch R, Gruber AD. Differential expression of cell cycle regulators p21, p27 and p53 in metastasizing canine mammary adenocarcinomas versus normal mammary glands. *Res. Vet Sci*. 2009; 87(1): 91–96.

41- Kovalenko MS, Bilyi DD, Skliarov PM. ve ark. Prognostic markers of canine mammary tumours: Retrospective study of 142 cases. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021; 12(4): 649–654.

42- Kuppusamy K, Rajan A, Warriar A, Nadhan R, Patra D, Srinivas P. Cytological grading of breast tumors the human and canine perspective. *Front. Veter. Sci*. 2019; 6: 283.

43- Küçükusta AR. Tümör markerleri. *Endoskopi Der*. 1992; 1: 50-52.

44- Lagadic M, Estrada M, Camadro JP, Durand P, Goebel J, Tumeurs mammaires de la cne: critères d'u pronostic histologique et intérêt d'un grading. *Rec. Méd. Vét*. 1990; 166: 1035- 1042.

45- Ledecy V, Valencakova-Agyagosova A, Lepej J, Frischova Z, Hornak S, Nagy V. Determination of carcinoembryonic antigen and cancer antigen values with the radioimmunoassay method in healthy females dogs. *Vet. Med*. 2013; 58(5): 277–283.

46- Lee KH, Park HM, Son KH, Shin TJ, Cho JY. Transcriptome signatures of canine mammary gland tumors and its comparison to human breast cancers. *Cancers*. 2018; 10(9): 317.

47- Li Z, Yin S, Zhang L, Liu W, Chen B. Prognostic value of reduced E-cadherin expression in breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017; 8(10): 16445–16455.

48- Lutful Kabir FM, DeInnocentes P, Bird RC. Altered microRNA expression profiles and regulation of INK4A/CDKN2A tumor suppressor genes in canine breast cancer models. *J Cellular Biochem*. 2015; 116(12):2956-69.

49- Maekawa N, Konnai S, Okagawa T, ve ark. Immunohistochemical analysis of PD-L1 expression in canine malignant cancers and PD-1 expression on lymphocytes in canine oral melanoma. *PLoS One*. 2016; 11(6): e0157176.

50- Manuali E, De Giuseppe A, Feliziani F, ve ark. CA 15–3 cell lines and tissue expression in canine mammary cancer and the correlation between serum levels and tumour histological grade. *BMC Vet Res*. 2012; 8(1): 1-10.

51- Marquardt C, Wehrend A, Burkhardt E: Sonographic examination of mammary tumors in bitches. Part II: Preoperative sonographic evaluation of dignity. *Tierärztl Prax*. 2005; 33: 23-26.

52- Martí AJ. Clinical aspects of mammary disease in the bitch and queen. *İçinde Proceedings of the Southern European Veterinary Conference-SEVC*, October, Barcelona, Spain, 2019.

53- Mercadante AA, Kasi A, Genetics, Cancer Cell Cycle Phases, 2020.

- 54- Millanta F, Calandrella M, Vannozzi I, Poli A, Steroid hormone receptors in normal, dysplastic and neoplastic feline mammary tissues and their prognostic significance. *Vet Record*. 2006; 158(24): 821-824.
- 55- Misdorp W, Tumors of the mammary gland, Meuten DJ (ed), Tumors in Domestic Animals, 4th ed. Iowa: Iowa State Press; 2002; 575-599.
- 56- Mobasheri A, Cassidy J. Biomarkers in veterinary medicine: towards targeted, individualised therapies for companion animals. *Vet J*. 2010; 185(1): 1-3.
- 57- Mol JA, Van Garderen E, Selman PJ, Wolfswinkel J, Rijnberk A, Rutteman G. Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *J Clin Invest*. 1995; 95(5): 2028-2034.
- 58- Möröy T, Geisen C. Cyclin e. *Int. J Biochem Cell Biol*. 2004; 36(8): 1424-1439.
- 59- Munson L, Moresco A. Comparative pathology of mammary gland cancers in domestic and wild animals. *Breast disease*. 2007; 28(1): 7-21.
- 60- Nieto A, Peña L, Pérez-Alenza M.D, Sánchez MA, Flores JM, Castaño M. Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance. *Veterinary Pathology*. 2000; 37(3): 239-247.
- 61- Nowak M, Madej JA, Pula B, Dziegiel P, Ciaputa R. Expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), E-cadherin and Ki-67 in metastatic and non-metastatic canine mammary carcinomas. *Irish Vet J*. 2015; 69: 1-6.
- 62- Pan Y, Yuan Y, Liu G, Wei Y. P53 and Ki-67 as prognostic markers in triple-negative breast cancer patients. *PLoS one*. 2017; 12(2): e0172324.
- 63- Pan J, Zhang J. Research progress of PCNA in reproductive system Diseases. *Evid Based Complement Altern. Med*. 2021; 1-8.
- 64- Panni RZ, Linehan DC, DeNardo DG. Targeting tumor-infiltrating macrophages to combat cancer. *Immunotherapy*. 2013; 5(10): 1075-1087.
- 65- Pedersen AC, Sørensen PD, Jacobsen EH, Madsen JS, Brandslund, I. Sensitivity of CA 15-3, CEA and serum HER2 in the early detection of recurrence of breast cancer. *Clin Chem Lab Med*. 2013; 51(7): 1511-1519.
- 66- Pena L, Andrés PD, Clemente M, Cuesta P, Perez-Alenza MD. Prognostic value of histological grading in noninflammatory canine mammary karsinomas in a prospective study with two-year follow-up: relationship with clinical and histological characteristics. *Veterinary Pathology*. 2013; 50(1): 94-105

67- Pena L, Gama A, Goldschmidt MH, ve ark. Canine mammary tumors: a review and consensus of standard guidelines on epithelial and myoepithelial phenotype markers, HER2, and hormone receptor assessment using immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*. 2014; 51(1): 127-145.

68- Polton G. Mammary tumours in dogs. *Irish Vet J*. 2009; 62(1): 50-56. 2009.

69- Prat A, Pineda E, Adamo B, ve ark. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast*. 2015; 24: 26–35.

70- Qie S, Diehl JA. Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment. *J Molecular Med*. 2016; 94: 1313–1326.

71- Queiroga FL, Perez-Alenza MD, Silvan G, Pena L, Lopes C, Illera JC. Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005; 94(1-3): 181-187.

72- Queiroga FL, Pérez-Alenza D, Silvan G, Peña L, Illera JC. Positive correlation of steroid hormones and EGF in canine mammary cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. 2009; 115(1-2): 9–13.

73- Ramadan ES, Salem NY, Emam IA, AbdElKader NA, Farghali HA, Khattab MS. MicroRNA-21 expression, serum tumor markers, and immunohistochemistry in canine mammary tumors. *Veter. Res. Commun*. 2022; 46(2): 377–388.

74- Reed JC. Mechanisms of Apoptosis. *Am. J. Pathol*. 2000; 157(5): 1415–1430.

75- Robinson IA, McKee G, Nicholson A, ve ark. Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas. *Lancet*. 1994; 343(8903): 947–949.

76- Roy PG, Thompson AM. Cyclin D1 and breast cancer. *Breast*. 2006; 15(6): 718–727.

77- Rutteman GR. Hormones and mammary tumour disease in the female dog: an update. *In vivo (Athens, Greece)*. 1990; 4(1): 33-40.

78- Salas Y, Márquez A, Diaz D, Romero L. Epidemiological Study of Mammary Tumors in Female Dogs Diagnosed during the Period 2002–2012: A growing animal health problem. *PLoS One*. 2015; 10(5): 1-15.

79- Schrohl AS, Holten-Andersen M, Sweep F, ve ark. Tumour markers review, *Molecular Cellular Proteomics*. 2003; 2(6): 378-387.

80- Senhorello ILS, Terra EM, Sueiro FAR, ve ark. Clinical value of carcinoembryonic antigen in mammary neoplasms of bitches. *Veter. Comp. Oncol*. 2019; 18(3): 315–323.

81- Seung BJ, Lim HY, Shin JI, ve ark. CD204-Expressing Tumor-Associated Macrophages Are Associated with Malignant, High-Grade, and Hormone Receptor–Negative Canine Mammary Gland Tumors. *Veter. Pathol.* 2018; 55(3): 417–424.

82- Sfacteria A, Bertani C, Costantino G, Del Bue M, Paiardini M, Cervasi B, Piedimonte A, De Vico, G. Cyclin D1 Expression in Pre-cancerous and Cancerous Lesions of the Canine Mammary Gland. *J. Comp. Pathol.* 2003; 128: 245–251.

83- Simon D, Schoenrock D, Nolte I, Baumgartner W, Barron R, Mischke R. Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. *Vet Clin Pathol.* 2009; 38(4): 521–528.

84- Singer J, Weichselbaumer M, Stockner T, ve ark. Comparative oncology: ErbB-1 and ErbB-2 homologues in canine cancer are susceptible to cetuximab and trastuzumab targeting. *Mol. Immunol.* 2012; 50(4): 200–209.

85- Soare M, Vlăgioiu C. Evaluation of clinical and laboratory investigation techniques of mammary gland tumors in the female dog: bibliographic study. *Romanian Biotech Let.* 2012; 17(6): 7797.

86- Soler M, Dominguez E, Lucas X, ve ark. Comparison between ultrasonographic findings of benign and malignant canine mammary gland tumours using B-mode, colour Doppler, power Doppler and spectral Doppler. *Res Vet Sci.* 2016; 107: 141–146.

87- Sorenmo K. Canine mammary gland tumors, *Veterinary Clinics. Small Anim Prac.* 2003; 33(3): 573–596.

88- Sorenmo KU, Rasotto R, Zappulli V, Goldschmidt MH. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Vet pathol.* 2011; 48(1): 85-97.

89- Sorenmo KU, Durham AC, Kristiansen V, Pena L, Goldschmidt MH, Stefanovski D. Developing and testing prognostic bio-scoring systems for canine mammary gland carcinomas. *Veter. Comp. Oncol.* 2019; 17(4): 479–488.

90- Tavares WL, E Lavalle G, Figueiredo MS, ve ark. Evaluation of adverse effects in tamoxifen exposed healthy female dogs. *Acta Vet. Scand.* 2010; 52: 1-6.

91- Tecles F, Caldin M, Zanella A, ve ark. Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumors. *J Vet Diagnostic Invest.* 2009; 21(2): 214-219.

92- Thuroczy J, Reisvaag GJK, Perge E, Tibold A, Szilagyi J, Balogh L. Immunohistochemical detection of Progesterone and Cellular Proliferation in Canine Mammary Tumors. *J Comp Pathol.* 2007; 137(2-3): 122-129.

93- Valencakova-Agyagosova A, Frischova Z, Sevcikova Z, ve ark. Determination of carcinoembryonic antigen and cancer antigen (CA 15-3) in bitches with tumours on mammary gland: Preliminary report. *Vet Comp Oncol.* 2012; 12(3): 205–214.

94- Valko-Rokytovská M, Očenaš P, Salayová A, Titková R, Kostecká Z. Specific urinary metabolites in canine mammary gland tumors. *J Vet Sci.* 2020; 21(2): 1-10.

95- Varallo GR, Gelaleti GB, Maschio-Signorini LB, ve ark. Prognostic phenotypic classification for canine mammary tumors. *Oncol Lett.* 2019; 18(6): 6545–6553.

96- Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature.* 2000; 408(6810): 307–310.

97- Vousden KH, Lu X. Live or let die: The cell's response to p53. *Nat Cancer.* 2002; 2(8): 594–604.

98- Zmigrodzka M, Rzepecka A, Krzyzowska M, Witkowska-Pilaszewicz O, Cywinska A, Winnicka A. The cyclooxygenase2/prostaglandin E2 pathway and its role in the pathogenesis of human and dog hematological malignancies. *J Physiol Pharmacol.* 2018; 69(5): 653–661.

BÖLÜM VII

BOR VE HAYVAN SAĞLIĞI

Boron and Animal Health

Ahmet Cihat TUNÇ¹ & Mustafa KABU²

¹(Öğr. Gör. Dr.), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: cihattunc@aku.edu.tr

ORCID: 0000-0002-6296-6762

²(Doç. Dr.), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: mkabu@aku.edu.tr

ORCID: 0000-0003-0554-7278

Periyodik tabloda B ile sembolize edilen boron, genellikle diğer elementlerle bileşik oluşturmaktadır. Yaklaşık 230 türü bulunan bor mineralleri, oksijenle bağlanarak borat adı verilen çeşitli bor-oksijen bileşiklerini oluşturmaktadır. Bor genel olarak toprakta, kayalarda ve suda bulunmakla birlikte, bor üretimi dünya genelinde en çok Türkiye ve ABD' de bulunmaktadır. Bor elementinin insan, bitki ve hayvan sağlığında hayati derecede önemli bir role sahip olduğu yapılan araştırmalarla artık dünya genelinde kabul edilmektedir. Organoboron 'un kaynağı daha çok bitki kaynaklıdır (meyveler, sebzeler ve kabuklu yemişler). Örneğin ananas ve narenciye zengin bor kaynaklarıdır. Borun büyük çoğunluğu ise borik asit şeklinde bulunmaktadır. Türkiye 1865 yılından beri kalsiyum borat şeklinde üretim yapmakta (kalsiyum borat madenciliği) ve Avrupalı borik asit üreticilerine dağıtım yapmaktadır. Bor dinamik bir eser elementtir, inorganik boratlar borik asitlere dönüştürülür ve düşük fizyolojik pH seviyelerinde bile mukozal yüzeylerden emilebilmektedir. İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda kullanılan boratın % 90 ından fazlası borik asit olarak atılmaktadır. Bor elementinin kemik gelişimi,

yara iyileşmesi, kalsiyum-magnezyum emilimi ve kullanımı, atrit iyileşmesi, beyin fonksiyonlarını iyileştirme ve ani-inflamatuar etkisi olmak üzere çok çeşitli etkilerinin olduğu bilinmektedir.(1-3)

1. Bor 'un Metabolizma Üzerine Etkisi

Bor mineral metabolizmasında düzenleyici bir rol oynamakla birlikte, borun plazma konsantrasyonu hemostatik bir kontrol mekanizması altındadır. Bor takviyesi yapılan diyetlerle beslenen canlılarda D₃ konsantrasyonundan bağımsız olarak plazmada yüksek oranda demir ve bakır konsantrasyonuna neden olduğu daha önce yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur.(3,4) Bununla birlikte kemikteki çinko konsantrasyonunda ise belirgin bir azalma olduğu ancak serum çinko konsantrasyonunun etkilenmediği dikkati çekmiştir. Özellikle diyetdeki düşük D vitamini ve magnezyum miktarlarına bağlı olarak ortaya çıkacak çeşitli hastalıkların önlenmesinde bor takviyesinin önemli bir rol oynadığı daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Diyete yapılacak bor takviyesinin kemik gelişimi ve büyüme üzerine oldukça yararlı etkileri bulunmaktadır.(3,5,6) Bor, magnezyum emilimini ve kemik dokudaki birikimini önemli ölçüde artırmaktadır. Hipomagnezemi önleme ve tedavi prosedürlerinde günlük olarak yeterli düzeyde bor takviyesi kullanılabilir. Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalar magnezyumla birlikte kalsiyum eksikliğinde ortaya çıkan; büyüme geriliği, anomaliler vb. patolojilerin görülme oranının bor takviyesiyle önemli ölçüde azaldığını ortaya koymuşlardır. Bor, kalsifikasyon ve çeşitli etkenlerle nedeniyle baskılanan kalsiyum ve magnezyum seviyelerini yükseltmektedir. Bu durumla birlikte bor, ineklerde ortaya çıkacak hipokalsemi, hipomagnezemi gibi mineral eksikliklerinin önüne geçilmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, süt ineklerinde rasyona ilave edilen bor takviyesi ile birlikte, doğum sonrası dönemde önemli lipotropik etki ve iyileşmiş enerji dengesi durumu gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak, özellikle doğum sonrası dönemde negatif enerji dengesinin düzenlenmesinde ve karaciğer yağlanması, ketozis vb. metabolik hastalıklardan korunmada bor takviyesi önemli rol oynamaktadır.(3,6-9) İneklerde yapılan bir çalışmada, sodyum borat takviyesi yapılan hayvanların plazma lipid düzeyinin daha düşük seviyede olduğu görülmüştür. Bununla birlikte aynı hayvanlarda glukoz, insülin ve serum trigliserit düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir.(3,6-10) Elde edilen sonuçlar borun lipid metabolizması üzerinde olumlu etkilerini açıkça göstermektedir. Cıvcıvlerde ve domuzlarda yapılan çalışmalarda, insülin ve trigliserit üzerine olumlu etkide bulunan bor

takviyesinin, metabolizma düzenleyici rolünün önemini ortaya çıkarmıştır. Bu bilgiler ışığında yeterli oranda bor takviyesinin hayvanlarda iskeletin düzenli gelişimine katkı sağladığı, kalsiyum, magnezyum, D vitamini gibi mineral metabolizmasını olumlu yönde etkilediği, özellikle trigliserit ve insülin ile olan ilişkisi ile ketozis, yağlı karaciğer vb. metabolizma hastalıklarının önlenmesine katkı sağladığı söylenebilir.(1,3,11-15)

2. Bor ‘un Kan Parametreleri Üzerine Etkisi

Borun farklı sistemler üzerine bir çok olumlu etkisi bulunmaktadır. Karaciğer üzerine olumlu etkileri ile birlikte, karaciğer parametreleri üzerine de yapılan farklı çalışmalar ile olumlu etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Ratlarda yapılan çalışmalarda alanin amino transferaz (ALT) değerlerinin bor uygulaması yapılan hayvanlarda daha düşük seviyede olduğu ortaya konulmuştur. Benzer şekilde ratlarda bor takviyesi yapılan hayvanlarda kan serum trigliserit, high density lipoprotein (HDL), ALT ve kolesterol seviyelerinin daha düşük olduğu ortaya konulmuştur. Non Esterified Fatty Acids (NEFA) ve β -hidroksibütirik asit (BHBA) üzerine ratlarda yapılan çalışmalarda boraks takviyesinin etkili olmadığı bildirilmiştir. Buna karşın süt ineklerinde bor takviyesi ile yapılan çalışmalar da ise çok sayıda hematolojik indeks üzerinde geçici etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan bu süt ineklerinden alınan kan örneklerinde plazma lipid konsantrasyonunun düştüğü belirtilmiştir.(1-3,6-9) Kolesterol, low density lipoprotein (LDL) ve trigliserit düzeylerinde belirlenen düşük seviyeler metabolizma ve kan parametreleri üzerine olumlu etkilerini ortaya konulmuştur. Bu bağlamda hayvanlara uygulanan bor takviyesinin LDL bağlanmasını kısıtlayarak, fibroblastlara, karaciğer ve aort hücrelerine girişini engellediği düşünülmektedir. Ayrıca bor takviyesi HDL bağlanmasını uyararak karaciğer hücrelerinde düşüşe sebep olduğu ve karaciğer koruyucu etkisinden bahsetmek mümkündür. Avusturya’da simental ırkı ineklerde yapılan başka bir çalışma sonuçlarına göre; boraks uygulaması yapılan hayvanlarda HDL ve ürik seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. (5) Bununla birlikte hem boraks uygulaması yapılan hem de yapılmayan gruplar arasında süt veriminde herhangi bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmalar ışığında bor takviyesinin karaciğer sağlığını olumlu etkilediği, büyüme ve besin sindirilebilirliğine olumlu etki sağladığı düşünülmektedir. Özellikle geçiş döneminde süt ineklerinde kan parametreleri üzerine olumlu etkisi ve lipotropik etkisi göz önünde bulundurulduğunda, boraks takviyesinin faydalı olacağı

düşünülmektedir. Benzer şekilde kedi ve köpeklerde karaciğer yağlanması durumlarında da yine bor uygulaması yapılması faydalı olacaktır. Borun tiroid hormonu, insülin, östrojen ve progesteron dahil olmak üzere hormonların işlevi üzerine olumlu etkileri de bulunmaktadır. Hormonlar üzerine regüle edici etkisi yapılan çalışmalarla ortay konulmuştur. Özellikle insülin, testosteron, östrojen, triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) üzerine düzenleyici etkileri bulunmaktadır. (1-9, 13-19)

3. Bor'un Anti-inflamatuar Etkisi

Son dönemde bor üzerine pek çok alanda çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalardan antiinflamatuvar etki üzerine yapılan çalışmalardan oldukça olumlu sonuçlar alınmıştır. Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda bor takviyesi yapılan gruptaki hayvanlarda yangı mediyatörleri olarak bilinen CRP ve TNF- α düzeylerinde ciddi oranda azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum borun inflamatuvar yanıtta oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Özellikle osteoartrit olgularında hem iyileşmeyi artırması hem de non-steroid antiinflamatuvar kullanımının daha erken bırakılması gibi olumlu sonuçlar verdiği geçmiş dönemde yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. İnsanlar üzerinde yapılan diğer çalışmalarda ise CRP, fibrinojen ve eritrosit sedimentasyon hızını düşürdüğünü bildirmektedir. Araştırmacılar borun bu anti-inflamatuar etkisinin kan dolaşımında yer alan lökositler tarafından ortaya çıkan oksidatif patlamanın engellenmesi ile nötrofillerin hücre dışı istilacılara karşı aşırı aktivitesinin engellenmesinden kaynaklandığını düşünmektedir. Bunlara ek olarak bor, kan ve hücrelerde üçlü antioksidan enzim olarak yer alan: SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz düzeylerini yükselterek serbest radikallerin temizlenmesini artırmaktadır. Tüm bu etkileri göz önünde bulundurulduğunda borun özellikle eklem hastalıklarında hem iyileşmeye destek olması hem de antiinflamatuvar etkisinden dolayı kullanımının faydalı olacağı düşünülmektedir.(1-3)

4. Bor 'un Kanser Üzerine Etkisi

Kanser tedavisi üzerine yapılan araştırmalar her geçen gün artış göstermekte ve insanlık bu hastalıklar için sürekli bir arayış içerisinde bulunmaktadır. Bor 'un etkileri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda araştırmacılar, farklı kanser tiplerine karşı borun etkilerini araştırmaya yönelmektedirler. Yapılan çalışmalar sonucunda, Bor yönünden zengin gıdalarla beslenenlerde, toprağın ve suyun bor açısından zengin olduğu bölgelerde, prostat, meme, rahim ağzı ve akciğer

kanserleri dâhil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin daha az oranda görüldüğü ortaya konulmuştur. Bu bilgiler ışığında son yıllarda, opere edilemeyen veya malignant tümörlerde, doğal ve sentetik bor içeren bileşiklerin antikanser ajanı olarak kullanımı artmıştır. Bor içeren bileşikler, serin proteazların inhibisyonu, NAD-dehidrojenazlar, mRNA ekleme ve hücre bölünmesi, reseptör bağlanma taklidi ve apoptozun indüklenmesi dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla kanser hücrelerinin fizyolojisine ve çoğalmasına engel olmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda bor ile beslenen grupta prostat kanseri olma oranının daha düşük olduğu bildirilmiştir. Akciğer kanseri üzerine yapılan araştırmalar da ise bor takviyesinin hormon replasman tedavisi ile benzerlik gösterdiği ve kanser önleyici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Boronik asit ve bir dizi boron içeren fenoksiasetanilid türevlerinin hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF) 1'i büyük ölçüde inhibe ettiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Tümör kaynaklı anjiyojenezin inhibisyonu, birçok kitlesel tümör tipinin büyümesini önlemekte ve kanser tedavisi için yeni bir yaklaşım sağlamaktadır; bu nedenle HIF-1, antineoplastik tedavinin bir hedefi olarak belirlenmekte ve bunu bor ile sağlamanın mümkün olduğu düşünülmektedir. Ayrıca yine kanserle mücadele de bor kanser hücresi apoptozunun indüksiyonu aşamasında önemli rol oynamaktadır. Şeker-borat esterleri, normal hücrelere göre kanser hücrelerinin içindeki borat konsantrasyonunu artırarak bor taşıyıcıları olarak işlev görmektedir. Artan hücre içi borat konsantrasyonu sonucu, sadece borat taşıyıcılarını aktive etmekle kalmaz, aynı zamanda büyüme inhibisyonuna ve apoptozise de yol açmaktadır. Normal diyete ilave edilen boratla birlikte, kanser hücreleri genellikle şeker taşıyıcıları aşırı eksprese etmekte ve boratı düşük eksprese ederek şeker-borat esterlerini kanser gelişimini engelleyici ajanalar haline getirmektedir. Kanser tedavisinin her aşamasında kullanılmaya başlanan bor, multiple miyelom ve lenfoma tedavilerinde kullanılan bileşiklerde proteazom inhibitörü olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca kanser tedavisinde kullanılan en önemli yan etkilerinden bir tanesi de immunsupresyondur. Kemoterpatiklerle birlikte borik asit kullanımıyla, lenfositlerde indüklenen genotoksisite ve sitotoksisiteye karşı korunmaya yardımcı olabileceği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.(1-3,20-26)

5. Bor'un Antioksidan Etkisi

Bor, doğal olarak bulunan mineral maddelerden biridir. Sağlık hizmetlerinde geleneksel kullanımının yanı sıra bor, tarımsal, endüstriyel ve

kozmetik kullanımlarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, yaşam döngüsünün tamamlanması için gerekli kabul edilmektedir. Borun hayvan sağlığını ve refahını olumlu yönde etkileyen birçok muhtelif etkiye sahip olduğuna dair önemli çalışmalar yapılmıştır. Borun, vücudun farklı dokularında üretilen enflamatuar ve oksidatif stresin modülasyonundaki rolü üzerine yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Son zamanlarda, oksidatif stresin glikoz zehirlenmesinin neden olduğu β -hücre disfonksiyonundan, en azından kısmen sorumlu olduğu ve doku hasarına neden olduğu belirlenmiştir. Hücresel antioksidan olaylar, oksidatif hasara karşı duyarlılığı etkiler ve sıklıkla oksidatif strese yanıt olarak ortaya çıkmaktadır. Son zamanlarda oksidatif stresin yükseldiği durumlarda oksidatif hasarı önlemek için birçok antioksidan kullanılmaktadır. Enzimler (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz), vitaminler (E ve C) ve mineraller (selenyum, Çinko, bor) gibi antioksidanlar, DNA hasarına ve oluşmasından sorumlu olan lipid peroksidasyonuna karşı hücreleri birçok patolojik bozukluktan korumak için kullanılmaktadır. Borun antioksidan, hepatoprotektif ve antijenotoksik etkilere sahip olduğu yapılan birçok araştırmada ortaya konulmuştur. Borun vücudun glutatyon depolarını artırarak ve diğer reaktif oksijen türlerini inhibe ederek oksidatif hasarı sınırladığı düşünülmektedir. Ratlar da yapılan bir çalışmada bor takviyesinin, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin artması yoluyla hepatik hücre karsinomu, karbon tetraklorür ve malathion kaynaklı toksisitenin neden olduğu oksidatif stresi büyük ölçüde iyileştirmek için koruyucu bir önlem olabileceği ortaya konulmuştur. Ek olarak, Bor 'un diyetle dahil edilmesinin, hayvanlarda süperoksit dismutaz enziminin gen ekspresyonunu modüle edebileceği düşünülmektedir. Yapılan bu araştırmalar göstermektedir ki; hayvanlara verilen bor takviyesinin antioksidan enzimleri artırdığı, oksidatif stresi azalttığı, lipid peroksidasyonunu ve DNA hasarını azalttığı belirlenmiştir. (1-3,11,27-31)

Yüksek sıcaklık, hayvancılık üretiminde belirgin düşüğe neden olmaktadır. Tropikal bölgelerde, yüksek sıcaklıklar hayvancılık üretimini olumsuz olarak etkilemekte ve en zararlı etki üretken, fizyolojik ve immünolojik değişkenler üzerine olmaktadır. Bor, hayvanların şeker translokasyonunda, hücre duvarı oluşumunda, kemik oluşumunda, antioksidanlarda ve bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynamakta ve yüksek ısı stresin giderilmesinde faydalı bir işleve sahip olduğu düşünülmektedir. Bu konuda hayvanlar üzerindeki çalışmalar halen sınırlı olmakla birlikte, bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda antioksidan enzimleri artırdığı ve bu nedenle ısı stresinden kaynaklanan reaktif oksijen türleri (ROS) hasarının giderilmesinde faydalı olduğu yapılan çalışmalarla

desteklenmiştir. Benzer şekilde hayvanların ısı stresinden korunmasında borun önemli olabileceği düşünülmektedir.(3,31)

6. Bor'un Detoksifikasyon Etkisi

Doğum öncesi dönemde süt hayvanlarının rasyonuna Bor takviyesinin, metabolik bozukluğu önlediği ve florür toksisitesini hafiflettiği bildirilmektedir. Ağır metallerin hem kardeş kromatid değişimi hem de mikronükleus insidansını ve oksidatif stresin bir belirteci olan malondialdehitin plazma seviyelerini arttırdığı, antioksidan enzimin aktivitesini ve analoglaştırılmış glutatyonun toplam konsantrasyonunu azalttığı bildirilmiştir. Ratlarda yapılan çalışmalarda hem ağır metal toksikasyonunda hem de florid toksikasyonunda bor takviyesinin hayvanlarda iyileşme sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca aflatoksin B1, kurşun ve kadmiyum toksisitesi durumlarında DNA zinciri kırılmalarının ve mikronükleilerin indüklenmesine karşı koruma sağladığı yine yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.(1,3,10)

Bor şüphesiz insan ve hayvan sağlığı için hayati önem taşımaktadır. Bor, düşük seviyelerde biyolojik sistemler üzerinde çok çeşitli fizyolojik etkilere sahiptir; ancak yüksek düzeyde toksik etki göstermektedir. Uzun yıllardır bor, bitki yönetiminde pestisit, antimikrobiyal ve antifungal ajan olarak kullanılmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, borun enzim aktivitelerini kofaktörlerine bağlanarak doğrudan veya dolaylı bir şekilde zayıflattığını göstermiştir. Bu sırada çeşitli metabolitlere müdahale etmekte; hem insanlarda hem de hayvanlarda enerji ve mineral metabolizmalarında değişiklikler yapmaktadır. Borun kemik metabolizmasında önemli rolleri vardır. Enflamatuvar hastalık riskini azaltır, cinsel hormonları destekler ve ısı stresini azaltır. Ayrıca bor, doğal bir antikanser, antioksidan ve detoksifikasyon ajanıdır. Hayvancılık üretimine ve sağlığına olumlu yansımaları olabilecek borun gerçek etki mekanizmalarını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Uluisik I, Karakaya HC, Koc A. The importance of boron in biological systems. *J Trace Elem Med Biol* 2018; 45: 156-162.
2. Pizzorno L. Nothing boring about boron. *Integr Clin Med* 2015; 14(4): 35.
3. Abdelnour SA, Abd El-Hack ME, Swelum AA, Perillo A, Losacco C. The vital roles of boron in animal health and production: A comprehensive review. *J Trace Elem Med Biol* 2018; 50: 296-304.

4. Kabu M, Akosman MS. Biological effects of boron. *Rev Environ Contam Toxicol* 2013; 57-75.

5. Kabu M, Uyarlar C. The effects of borax on milk yield and selected metabolic parameters in Austrian Simmental (Fleckvieh) cows. *Vet Med* 2015; 60(4): 175-180.

6. Kabu M, Birdane FM, Civelek T, Uyarlar C. Affects of boron administration on serum Ca, Mg and P of peripartum Cows. *Arch Anim Breed* 2013; 56(1): 733-741.

7. Kabu M, Civelek T, Birdane FM. Effects of boron, propylene glycol and methionine administration on some hematological parameters in dairy cattle during periparturient period. *Vet Arh* 2014; 84(1): 19-29.

8. Kabu M, Tosun M, Elitok B, Akosman MS. Histological evaluation of the effects of borax obtained from various sources in different rat organs. *Int J Morphol* 2015; 33(1).

9. Kabu M, Uyarlar C, Zarczynska K, Milewska W, Sobiech P. The role of boron in animal health. *J Elem* 2015; 20(2).

10. Basoglu A, Baspinar N, Tenori L, Vignoli A, Gulersoy E. Effects of boron supplementation on peripartum dairy cows' health. *Biol Trace Elem Res* 2017; 179: 218-225.

11. Hunt CD. Dietary boron: an overview of the evidence for its role in immune function. *J Trace Elem Med Biol* 2003; 16(4): 291-306.

12. Armstrong TA, Spears JW. Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. *J Anim Sci* 2001; 79(12): 3120-3127.

13. Bartha T, Sayed-Ahmed A, Rudas P. Expression of leptin and its receptors in various tissues of ruminants. *Domest Anim Endocrinol* 2005; 29(1): 193-202.

14. Kaya A, Karakaya HC, Fomenko DE, Gladyshev VN, Koc A. Identification of a novel system for boron transport: Atr1 is a main boron exporter in yeast. *Mol Cell Biol* 2009; 29(13): 3665-3674.

15. Khaliq H, Juming Z, Ke-Mei P. The physiological role of boron on health. *Biol Trace Elem Res* 2018; 186: 31-51.

16. Woods WG. An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. *Environ Health Persp* 1994; 102(7): 5-11.

17. Yazici Z, Kaya Y, Baltaci AK, Mogulkoc R, Oztekin E. The effects of boron administration on plasma leptin and lactate levels in ovariectomized

rats which had acute swimming exercise. *Neuro Endocrinol Lett* 2008; 29(1): 173-177.

18. Zieba DA, Amstalden M, Williams GL. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest Anim Endocrinol* 2005; 29(1): 166-185.

19. Nielsen FH. Boron deprivation decreases liver S-adenosylmethionine and spermidine and increases plasma homocysteine and cysteine in rats. *J Trace Elem Med Biol* 2009; 23(3): 204-213.

20. Barranco WT, Hudak PF, Eckhert CD. Evaluation of ecological and in vitro effects of boron on prostate cancer risk (United States). *Cancer Causes Control* 2007; 18: 71-77.

21. Cakmak I, Römheld V. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil* 1997; 193(1-2): 71-83.

22. Cui Y, Winton MI, Zhang ZF, ve ark. Dietary boron intake and prostate cancer risk. *Oncol Rep* 2004; 11(4): 887-892.

23. Genadieva-Stavric S, Cavallo F, Palumbo A. New approaches to management of multiple myeloma. *Curr Treat Options Oncol* 2014; 15: 157-170.

24. Pesatori AC, Carugno M, Consonni D, ve ark. Hormone use and risk for lung cancer: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium (ILCCO). *Br J Cancer* 2013; 109(7): 1954-1964.

25. Yao Y, Gu X, Zhu J, ve ark. Hormone replacement therapy in females can decrease the risk of lung cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8(8): e71236.

26. Zafar H, Ali S. Boron inhibits the proliferating cell nuclear antigen index, molybdenum containing proteins and ameliorates oxidative stress in hepatocellular carcinoma. *Arch Biochem Biophys* 2013; 529(2): 66-74.

27. Bhasker TV, Gowda NKS, Pal DT, ve ark. Influence of boron supplementation on performance, immunity and antioxidant status of lambs fed diets with or without adequate level of calcium. *PLoS one* 2017; 12(11): e0187203.

28. Coban FK, Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Hazman O. Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug Chem Toxicol* 2015; 38(4): 391-399.

29. Jin L, Xue HY, Jin LJ, ve ark. Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Eur J Pharmacol* 2008; 582(1-3): 162-167.

30. Sadi G, Konat D. Resveratrol regulates oxidative biomarkers and antioxidant enzymes in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol* 2016; 54(7): 1156-1163.

31. Shahid M, Nayak AK, Tripathi R, ve ark. Boron application improves yield of rice cultivars under high temperature stress during vegetative and reproductive stages. *Int J Biometeorol* 2018; 62: 1375-1387.

BÖLÜM VIII

KÖPEKLERİN MİKSOMATÖZ MİTRAL KAPAK HASTALIĞI

Myxomatous Mitral Valve Disease (MMVD) of Dogs

Durmuş Fatih BAŞER¹ & Zeynep ÇAKMAK²

¹(Dr. Öğr. Üyesi), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: dfbaser@aku.edu.tr

ORCID: 0000-0003-4272-9011

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: zeynepsenacakmakk@gmail.com

ORCID: 0000-0002-0467-9124

1. Giriş

Miksomatöz mitral kapak hastalığı (MMVD), mitral kapağın yavaş ilerleyen miksomatöz dejenerasyonu ve ardından sol atriyal ve ventriküler dilatasyonu ile karakterizedir.(1) Köpeklerde en çok karşılaşılan edinsel kalp hastalıklarından biridir. Genel olarak veteriner kliniklerine başvuran köpeklerin %10'unun kalp hastalığı olduğu ve bunların %75'inin dejeneratif kapak hastalığı olduğu bildirilmektedir. Kedilerde klinik olarak önemli edinsel kapak hastalığı oldukça azdır.(2)

MMVD ırk, cinsiyet ve yaşla ilişkilidir. En yüksek yaygınlık, Cavalier King Charles Spaniel, Dachshunds, Minyatür Poodles ve Yorkshire Terriers gibi küçük ve orta boy köpek ırklarında, genellikle orta yaşlı ve yaşlı köpeklerde görülür.(1) Cavalier King Charles Spaniel ırkları ve Dachshund ırkları üzerinde yapılan çalışmalar, genetik faktörlerin etiolojide büyük rol oynadığına dair kanıtlar sunmaktadır.(3) Hastalık erkek köpeklerde dişilere oranla 1.5 kat daha fazla görülmektedir.(4)

American College of Veterinary Internal Medicine'in (ACVIM)(2) konsensus açıklamalarına göre, mitral yetmezliğe bağlı kalp üfürümü olan ancak klinik konjestif kalp yetmezliği (CHF) belirtileri olmayan köpekler, klinik öncesi aşamadaki köpekler, evre B olarak sınıflandırılır, kardiyak yeniden şekillenmenin yokluğu veya varlığına göre B1 veya B2 olarak sınıflandırılır. Klinik kalp yetmezliği bulguları olan köpekler, evre C olarak sınıflandırılır. MMVD genellikle uzun bir prelinik dönemle birlikte yavaş ilerler. Ancak konjesif kalp yetmezliği ile evre C'ye girdikten sonra hastalık daha hızlı ilerler ve ortalama hayatta kalma süresi 12 aydan azdır. Bu nedenle, etkilenmiş köpeklerin ömrünü uzatmak ve yaşam kalitesini artırmak için erken prelinik aşamalarda MMVD'nin ilerlemesini yavaşlatmak veya önlemek büyük öneme sahiptir. (5)

1.2. Etiyoloji ve Patogenez

Miksomatöz kapak hastalığı, en yaygın olarak mitral kapağı etkiler. Vakaların %30'unda triküspit kapakta da görülmüştür.(6) Dejeneratif kapak hastalığı etiyojisi tam olarak bilinmemektedir ancak kollajen ve diğer hücre dışı matris bileşenlerindeki bazı anormalliklerin MMVD'ye yatkınlık oluşturduğu öne sürülmüştür.(7) Kapak değişiklikleri yaşla birlikte yavaş yavaş gelişir. Valvular dejenerasyon, kapakçıkların serbest uçlarında glikozaminaoglikan (miksomatöz proliferasyon) birikmesiyle başlar.(8) Erken lezyonlar kapağın serbest kenarlarındaki küçük nodüllerden oluşur. Zamanla bunlar, kapağı kalınlaştıran ve deforme eden daha büyük, birleşen plaklar haline gelir. Kapak dejenerasyonu kötüleştiğinde, giderek daha büyük bir kan hacmi ventrikül ve atriyum arasında ileri geri hareket ederek aorta giden ileri akışı azaltır.(9)

Hafif MMVD vakalarındaki makroskobik bulgular, özellikle klinik mitral regürjitasyon kanıtı olmayan köpeklerde belirgin olmayabilir. MMVD'nin erken evreleri için tipik olan bulgular, 2D ekokardiyogramda tanımlanabilen, (10) uzamış korda tendineaları ve atriyal tarafa doğru şişkinlik, balonlaşma, sarkma gösteren alanlara sahip genişlemiş, kalınlaşmış yaprakçıkları içerir. (11,12)

Mitral regürjitasyona bağlı olarak kardiyak verimin düşmesi ile birlikte nabız artışı, su tutulması ve periferik vazokonstriksiyon gibi mekanizmalar devreye girer. Başlangıçta bu mekanizmalar kardiyak verim ve kan basıncının devamının sağlanmasında etkili olsa da (13) bu durum kardiyak yükü artırır. Kardiyak verimin düşmesi kalp yetmezliği semptomlarının ortaya çıkmasına neden olur. Sol atriyal basınç artışına bağlı olarak pulmoner venöz basınçtaki

artış venöz konjesyon, intersitisyel ve alveoler akciğer ödeminin oluşumuyla sonlanır. Mitral regürgitasyona bağlı sol kalp yetmezliğinin ilerlemesi yaygın olmamakla birlikte sağ kalp yetmezliği ile de sonuçlanabilir. Bu oluşumda triküspital kapak yetmezliği oluşmuşsa hepatosplenomegali, ascites ve/veya hidrotoraks gözlenir. (8,14)

1.3. Klinik Bulgular

Kalp yetmezliği çoğunlukla mitral regürgitasyona bağlı sol kalp yetmezliği semptomlarına yol açar fakat triküspital kapakların etkilenmesiyle sağ kalp yetmezliği de şekillenebilir.(15) ACVIM sınıflandırmasına göre MMVD'li köpeklerde kalp yetmezliği, predispozisyon faktörleri ve klinik belirtilere göre 4 kategoriye ayrılmaktadır (Tablo 1).(8)

Tablo 1: MMVD olan köpeklerde predispozisyon faktörleri ve klinik belirtilere göre sınıflandırma.

Sınıflandırma	Tanımlama
Sınıf A	Kardiyak yapısal bozukluğu bulunmayan MMVD'ye predispoze köpek ırkları (Cavalier King Charles Spaniel ve Dachsund).
Sınıf B1	Klinik belirti göstermeyen, radyografi ve ekokardiyografide kardiyak bozukluk belirlenmeyen MMVD'li köpekler.
Sınıf B2	Klinik belirti göstermeyen fakat radyografi ve ekokardiyografide kardiyak bozukluk belirlenen MMVD'li köpekler (örn; sol kalp genişlemesi).
Sınıf C	Geçmişte veya şu anda klinik olarak kalp yetmezliği olan ve yapısal olarak kalp bozukluğu bulunan MMVD'li köpekler.
Sınıf D	Standart kalp yetmezliği tedavisi gerektiren son dönem kalp yetmezliği olan MMVD'li köpekler.

Kalp yetmezliği geliştiğinde taşipne, dispne, öksürük, halsizlik, egzersiz intolerans, senkop, iştahsızlık, kilo kaybı ve ani ölüm gibi semptomlar ortaya çıkar. Diğer klinik semptomlar arasında aritmi, nabız düzensizliği, kardiyak gallop (genellikle S3 kalp sesi), solunum sisteminde raller ve solunum güçlüğü, muköz membranlarda siyanoz, kapiller dolum zamanında uzama, ekstremitelerde soğuma ve nabızda zayıflama dikkati çeker.(12, 14)

1.4. Tanı ve Tedavi

Dejeneratif kapak hastalıklarında en erken belirti mitral kapak bölgesinde hafif üfürümün belirlenmesidir. Karakteristik üfürüm, yaş ve predispoze ırklar dikkate alındığında tanı genellikle zor değildir. Ancak hastalığın erken devrelerinde klinik tanının konulması güç olabilir.(8)

Radyografi, MMVD'nin hemodinamik sonuçlarının (büyümüş kalp boyutu, pulmoner konjesyon ve ödem varlığı) değerlendirilmesi açısından önemlidir. Radyografide en önemli bulgu sol atriyal genişlemedir.(1) Radyografik kalp boyutlarının kardiyomegali yönünden değerlendirilmesi için vertebral kalp skorlaması (VHS) kullanılmaktadır (15). MMVD'nin ilerlemesiyle, pulmoner konjesyon ve ödemin radyografik bulguları gelişebilir. Normal veya hafif artmış kalp boyutuna sahip bir köpeğe göre, pulmoner konjesyon ve ödemin, önemli ölçüde kalp büyümesi olan bir köpekte mevcut olma olasılığı daha yüksektir ki bu ilerlemiş MMVD'si olan köpeklerde hastalığın ilerlediğini gösterir. Bununla birlikte, kardiyak genişlemenin derecesi, pulmoner konjesyon ve ödemin ciddiyeti ile zayıf bir şekilde ilişkilidir.(1)

Mitral kapak hastalığında şekillenen makroskopik mitral kapak lezyonları 2D ve M mod ekokardiyografi ile sağ parasternal uzun eksen dört boşluk, sağ parasternal kısa eksen mitral kapak düzeyi ve sol apikal iki ve dört boşluk görüntülerde belirlenebilmektedir. Korda tendinea rupturu ve kalınlaşmış korda tendinealar sık görülen bir komplikasyon olarak 2D görüntüde, sistol sırasında, mitral kapak yaprakçıklarının sol atrium içine kısmi ya da tamamen serbest salınımı şeklinde izlenmektedir.(16,12)

1.4.1. Sınıflandırma

Kalp yetmezliği gelişme riski ortalamanın üzerinde olan ancak muayene sırasında görünürde herhangi bir yapısal anormalliği olmayan (işitilebilir kalp üfürümünün olmaması) predispoze ırklar A evresi olarak tanımlanmaktadır. (4) MMVD geliştirmeye eğilimli olduğu bilinen ırklar (Cavalier King Charles Spaniels, Dachshunds, Minyatür ve Toy Poodle) dahil olmak üzere küçük ırk köpekler, rutin sağlık hizmetlerinin bir parçası olarak düzenli değerlendirmelerden geçmelidir.(4) Önerilen herhangi bir diyet veya ilaç tedavisi yoktur.

B evresindeki köpeklerde yapısal olarak anormallik başlamıştır, ancak hastalıklarıyla ilişkili klinik kalp yetmezliği belirtileri yoktur. Miksomatöz mitral kapak hastalığı bir tarama veya rutin sağlık muayenesi sırasında mitral

kapak yetersizliğine özgü bir kalp üfürümünün oskültasyonu ile tanınır. Tüm hastalarda toraks radyografisi önerilir. MMVD'li hastalar sıklıkla eşzamanlı trakeal veya bronşiyal hastalıklara sahiptir ve hastalığın asemptomatik döneminde temel radyografilere sahip olmak, ilerleyen dönemlerde klinik belirtiler karşısında öksürüğün kardiyak ve kardiyak olmayan nedenlerini radyografik olarak ayırt etmede büyük öneme sahiptir. Ekokardiyografide, uzun eksenli ekokardiyografik oranların (sol ventrikül (LV)/aorta (Ao), LA/Ao ve LA/LV) MMVD'li köpeklerde sol atriyal ve ventriküler genişlemeyi belirlemede etkili olduğu kanıtlanmıştır(4,14) B evresi kendi içinde B1 ve B2 olmak üzere ikiye ayrılmıştır.

B1 evresi, MMVD sonucu kalpteki yapısal değişikliklerin radyografik veya ekokardiyografik kanıtı olmayan asemptomatik köpeklerle, kalpte yapısal bozuklukların yeni başlamış olduğu ekokardiyografik veya radyografik kanıtlara sahip olan köpekleri tanımlar. Bu köpeklerde tedavi önerilmemektedir çünkü hastalığın bu erken evresinde kalp yetmezliğindeki ilerleme belirsizdir, bu evrede meydana gelmesi pek olası değildir ve bu aşamada ilacın etkili olduğuna dair bir kanıt yoktur.(4,14)

Bir klinik araştırmanın sonuçlarına dayalı olarak klinik belirtilerin başlamasından önce tedavi önermeye yetecek kadar kardiyak yapısal bozukluk (LA ve LV genişlemesi) ile sonuçlanacak kadar şiddetli mitral regürjitasyona neden olan asemptomatik MMVD B2 evresi şeklinde tanımlanır. (4) Bu evrede üfürüm yoğunluğu $\geq 3/6$, sol atriyum ekokardiyografisinde erken diyastolde sağ kısa eksen görünümünde Ao oranı $\geq 1,6$ (17) , vücut ağırlığına göre normalleştirilmiş diyastoldeki sol ventrikül iç çapı (LVIDDN) $\geq 1,7$ (18) ve türe göre ayarlanmış radyografik vertebral kalp skoru (VHS) $>10,5$ 'tir. (4) Elde edilen ekokardiyografik bulgular B2 evresinin B1 evresinden ayırt edilmesinde kullanılır. Tedaviye başlamadan önce tüm bu kriterlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu evrede potansiyel yararı olan ilaçlar arasında anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ACE-I), beta adrenerejik reseptör antagonistleri (BARA), inodilatörler (pimobendan) ve mineralokortikoid reseptör blokörü (MRB) bulunur. (19) B2 evresi MMVD'li köpeklerde kullanım için açık ara en yoğun şekilde çalışılan farmakolojik modalite ACE-I'dir. Bu tür tedavinin mantığı, sistemik arteriyollerin ve damarların vazodilatasyonu, sıvı tutulmasına karşı koymak, ilerleyici sol ventrikül ve sol atriyal dilatasyon sürecinin önüne geçmek ve daha olumlu bir hemodinamik durum ortaya çıkarmaktır.(20) Pimobendan 0,25-0,3 mg/kg PO q12h dozunda önerilir.(21) Aynı zamanda diyet tedavisinde hafif diyet sodyum kısıtlaması ve optimal vücut

kondisyonunu korumak için yeterli protein ve kalori içeren bir diyet sağlanması yer alır.(21)

C evresi, MMVD'nin neden olduğu kalp yetmezliğinin mevcut veya geçmişteki klinik belirtileri olan köpekleri tanımlar ve ikiye ayırır. C1 evresi, ciddi MMVD ve mitral regüritasyon klinik belirtileri olan ve hastaneye yatmayı gerektiren köpekleri temsil eder. Genel olarak, bu köpekler için tedavi, artan venöz basınçlar ve düşük kalp debisi ile ilişkili klinik belirtileri hafifletmek için hastanın hemodinamik durumunu düzenleyerek, kalp atış hızını ve miyokard kontraktilitesini optimize ederek klinik belirtileri hafifletmeyi amaçlar. (19) C2 evresi ise klinik belirtileri evde tedaviye izin verecek kadar hafif olan köpekleri temsil eder. Tedavi evde oral yolla hasta sahibi tarafından sürdürülür. Kalp yetmezliği olan köpeklerde mümkün olan en kısa sürede minimum PCV'nin yanı sıra serum toplam proteini, kreatinin, üre nitrojen ve elektrolit konsantrasyonları ve idrar özgül ağırlığı dahil olmak üzere temel laboratuvar testleri yapılmalıdır. Bozulmuş böbrek fonksiyonu, özellikle kalp yetmezliği olan köpeklerde önemli bir komorbidite nedenidir. Azalmış kalp debisine dönüş sodyum ve su tutulmasını artırır.(22) C ve D evrelerindeki çoğu köpek, yüksek hızlı erken dolum dalgalarına sahiptir. Semptomatik pulmoner hipertansiyon kanıtı olan köpeklerde (örneğin, egzersiz yorgunluğu, çökme veya senkop, sağ taraflı konjesif kalp yetmezliğinden kaynaklanan asites), spektral doppler bulguları tanıyı doğrulayabilir ve terapötik karar vermeye rehberlik edebilir. Kalp yetmezliğinin neden olduğu klinik bulguları olan köpekler, klinik bulguların primer akciğer hastalığından kaynaklandığı köpeklerden daha yüksek serum NT-proBNP konsantrasyonlarına sahiptir.(4,23) Pimobendan 0.25-0.3 mg/kg POq12h ve ACEI (anjyotensin dönüştürücü enzim inh.) 0.5mg/kg POq12h dozunda önerilmektedir. Furosemid 12mg/kg IV veya IM ve ardından 2mg/kg/h IV veya IM sonucunda hastaların solunum belirtileri önemli ölçüde iyileşir. (4,19,24)

Kalp yetmezliğinin klinik belirtilerinin standart tedaviye dirençli olduğu son dönem D evresidir. Tanı yöntemi C evresiyle aynıdır. Şiddetli böbrek yetmezliği (serum kreatinin konsantrasyonu >3 mg/dL) yokluğunda, kalp yetmezliği tanısı konan dispneli hastalara başlangıçta 2 mg/kg IV bolus ve ardından ek bolus dozları veya solunum sıkıntısı azalana kadar ya da maksimum 4 saat 0.66-1 mg/kg/saat dozunda furosemid CRI önerilmektedir. Pimobendan dozu üçüncü bir 0.3mg/kg günlük PO dozunu içerecek şekilde artırılabilir.(4,19)

2. Sonuç

Sonuç olarak, özellikle hastalığa predispoze küçük ırkların rutin belirli aralıklarla kardiyolojik muayenelerinin yapılması hem MMVD için hem de diğer edinsel ve konjenital kalp hastalıklarının erken tanı ve tedavisi için büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Ettinger SJ, Feldman EC, Côté Etienne. Adult-Onset Valvular Heart Disease. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat. St. Louis (Missouri): Elsevier 2017; 3033-3070.
2. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, Fox P, Gordon S, Haggstrom J, Hamlin R, Keene B, Luis-Fuentes V, Stepien R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2009; 23(6):1142–1150.
3. Swenson L, Häggström J, Kwart J, et al. Relationship between parental cardiac status in Cavalier King Charles Spaniels and prevalence and severity of chronic valvular disease in offspring. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208:2009–2012.
4. Keene BW, Atkins CE, Bonagura JD, et al. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J Vet Intern Med* 2019; 33(3):1127-1140. doi:10.1111/jvim.15488.
5. Haggstrom J, Boswood A, O’Grady M, Jons O, Smith S, Swift S, Borgarelli M, Gavaghan B, Kresken JG, Patteson M, et al. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. *J Vet Intern Med* 2008; 22(5):1124–35.
6. Borgarelli M, Buchanan JW. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012; 14:93-101.
7. Häggström J: Chronic valvular disease in Cavalier King Charles Spaniels-epidemiology, inheritance and pathophysiology. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 1996.
8. Durgut R, Güzel M. Dejeneratif Kapak Hastalığı (Miksomatöz mitral Kapak Hastalığı). *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 2014; 5(1):71-76.
9. Couto CG, Nelson RW. *Small Animal Internal Medicine*. St. Louis, MO: Elsevier/Mosby; 2020.

10. Whitney JC. Observation on the effect of age on the severity of heart valve lesions in the dog. *J Small Anim Pract* 1974; 15:511-522.

11. Pedersen H, Häggström J. Mitral valve prolapse in the dog: A model of mitral valve prolapse in man. *J Cardiovasc Res* 2000; 47:234-243.

12. Boon, JA. Two-dimensional and M-mode echocardiography for the small animal practitioner. 2017. John Wiley & Sons Inc.

13. Ware WA. Acquired valvular disease. *Cardiovascular Disease in Small Animal Medicine*. 1st ed. London: Manson Publishing; 2007. p.263-79.

14. Schaer M, Gaschen Frédéric. *Clinical Medicine of the Dog and Cat*. Boca Raton: CRC Press; 2016.

15. Alihosseini H, Çolakoğlu EÇ, Haydardedeoğlu AE. Röntgenden Klinik Yaklaşımına Köpeklerde radyografik Kardiyomegali. *MAE Vet Fak Derg* 2017; 2(2):163-170.

16. Bayrakal A, İskefli O, editör(ler). *Kedi ve Köpeklerde Temel Ultrasonografi ve Ekokardiyografi*. Türkiye: Güneş Tıp Kitapevleri; 2021.

17. Hansson K, Haggstrom J, Kvart C, Lord P. Left atrial to aortic root indices using two-dimensional and M-mode echocardiography in cavalier king Charles Spaniels with and without left atrial enlargement. *Veterinary Radiology Ultrasound* 2002; 43(6):568-575. doi:10.1111/j.1740-8261.2002.tb01051.x.

18. Cornell CC, Kittleson MD, Torre PD, et al. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. *J Vet Intern Med* 2004; 18(3):311-321. doi:10.1111/j.1939-1676.2004.tb02551.x.

19. Atkins CE, Häggström J. Pharmacologic management of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J Vet Cardiol* 2012; 14(1):165-184. doi:10.1016/j.jvc.2012.02.002.

20. Werner CM, Bohm M. The therapeutic role of RAS blockade in chronic heart failure. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2008; 2:167-177.

21. Freeman LM, Rush JE, Markwell PJ. Effects of dietary modification in dogs with early chronic valvular disease. *J Vet Intern Med* 2006; 20:1116-1126.

22. *The Merck Veterinary Manual*. Merck & Co; 2005.

23. Oyama MA. Using cardiac biomarkers in veterinary practice. *Veterinary Clinics of North America: J Small Anim Pract* 2013; 43(6):1261-1272. doi:10.1016/j.cvsm.2013.07.010.

24. Stern JA, Hsue W, Song K-H, Ontiveros ES, Luis Fuentes V, Stepien RL. Severity of mitral valve degeneration is associated with chromosome 15 loci in whippet dogs. *PLoS ONE*. 2015; 10(10). doi:10.1371/journal.pone.0141234.

BÖLÜM IX

GEN EKSPRESYONU ANALİZİNDE REAL-TIME KANTİTATİF PCR

Real-Time Quantitative PCR for Gene Expression Analysis

Ali Osman TURGUT

*(Arş. Gör. Dr.), Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Zootehni Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye
e-mail: aosman.turgut@siirt.edu.tr
ORCID: 0000-0001-6863-0939*

1. Giriş

Real-Time PCR günümüzde özellikle bilimsel çalışmalarda yaygın olarak kullanılan ve klasik PCR'in modifikasyonu ile geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntem, ilk olarak Higuchi ve ark., (1993) tarafından geliştirilmiştir (1). Tanıtıldığı günden bu yana real-time PCR; genomik ve viral DNA kopya sayısı hesaplanması (2), allelik varyasyonların incelenmesi (3) ile genlerin spesifik sıplays varyantlarının ekspresyon analizleri (4) gibi farklı alanlarda kullanım alanı bulmuştur. Ancak real-time PCR'nun en yaygın kullanıldığı alan gen ekspresyonu çalışmalarıdır (5, 6). Gen ekspresyonu çalışmalarında RNA revers transkripsiyon reaksiyonu ile cDNA'ya dönüştürülmekte ve cDNA'lar PCR reaksiyonunda kalıp olarak kullanılmaktadır. Bu sayede ilgili gen veya genlerin ekspresyon düzeyi kantitatif olarak belirlenebilmektedir (7). Bu bölümde, PCR ve real-time kantitatif PCR uygulamasına ilişkin önemli hususlar kısaca özetlenmeye çalışılmıştır.

2. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Kısa Tarihçesi

Günümüzde bildiğimiz şekliyle polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction; PCR) ilk defa 1980'li yıllarında başında Kary Mullis tarafından geliştirilmiş moleküler bir yaklaşımdır. PCR yöntemi aslında dönemin

biyologları tarafından kullanılan farklı moleküler yöntemin birleştirilmesiyle ortaya çıkmıştır. DNA'nın kısa oligonükleotidler kullanılarak amplifikasyonu halihazırda bilinmekteydi. Ancak Kary Mullis'in bu yönetime getirdiği yenilik, birbirine eşlenik olan bölgelerin iki farklı oligonükleotid kullanılarak tekrarlı bir şekilde çoğaltılabilmeydi. Her siklusta sentezlenen hedef bölgenin bir sonraki siklusta kalıp olarak kullanılabilmesi nedeniyle bu yöntem polimeraz zincir reaksiyonu olarak isimlendirilmiştir (8).

PCR uygulamasında ana enzim olarak *Escherichia coli* bakterisinden izole edilen DNA polimeraz enzimi kullanılmaktaydı. Bu enzim, PCR'nun icadı sonrasında yaygın olarak kullanılsa da bazı dezavantajları bulunmaktaydı. PCR reaksiyonunda zincirlerin birbirinden ayrılması için ısı uygulanması gerekmektedir. Ancak ısı uygulaması *E. Coli* kökenli DNA polimeraz enziminin geri dönüşümsüz olarak inaktive olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle her siklus sonuna reaksiyona DNA polimeraz enziminin ilave edilmesi gerekmekteydi (8). Bu sorunun çözümü çok yüksek sıcaklıklarda dahi hayatta kalabilen *Thermus aquaticus* isimli bakteri ile mümkün olmuştur. *Thermus aquaticus*'tan izole edilen ve başarılı bir şekilde klonlanan DNA polimeraz enzimi (*Taq* polimeraz), PCR reaksiyonu sırasında tüp hiç açılmadan reaksiyonun tamamlanmasına olanak tanımıştır (9). Ayrıca termofilik kökenli bir organizmaya ait olması nedeniyle de *E.coli* kökenli DNA polimeraz enziminin daha yüksek hassasiyetle ve etkinlikle DNA'nın amplifikasyonunu mümkün hale getirmiştir (8).

3. PCR

Günümüzde PCR hemen her alanda yaygın olarak kullanılan moleküler bir teknik haline gelmiştir. PCR, DNA'daki spesifik bir bölgenin primer adı verilen oligonükleotidler aracılığıyla enzimatik olarak çoğaltılması olarak tanımlanmaktadır (10). PCR uygulaması, DNA replikasyon mekanizmasının temel mekanizmasını referans almaktadır (11).

3.1. PCR'in Bileşenleri

PCR reaksiyonunun temel bileşenleri; kalıp DNA, $MgCl^{+2}$, 10X buffer, forward primer, reverse primer, dNTP ve *Taq* DNA polimeraz enzimidir.

$MgCl^{+2}$, PCR reaksiyonunda kofaktör olarak rol oynamakta ve DNA polimerazın enzimatik aktivitesini artırmaktadır. Ayrıca primer ile kalıp DNA arasındaki bağlantının stabilizasyonunu sağlamaktadır. 10X buffer,

DNA polimeraz için uygun kimyasal koşulları sağlamak ve primerlerin, kalıp DNA'ya bağlanma etkinliğini artırmaktadır. Forward ve reverse primer, kalıp DNA üzerinde spesifik bir bölgenin çoğaltılmasına olanak tanımaktadır. PCR primerlerinin uzunluğu genel olarak 15-25 baz arasında değişmektedir. DNTP'ler (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) *Taq* polimeraz enzimi tarafından zincir uzatılması sırasında primerlerin 3' OH ucuna eklenerek zincirin uzamasına olanak tanımaktadır (12, 13). *Taq* polimeraz enzimi, PCR reaksiyonunda amplifikasyonu gerçekleştiren ana enzimdir. PCR reaksiyonun yaklaşık olarak 72 °C'lik optimum sıcaklıkta hedef bölgeye ait DNA zincirinin uzatılmasına olanak tanımaktadır. Ancak *Taq* polimeraz enzimi daha düşük veya yüksek ısılarda da etkinlik göstermektedir (8).

3.2. PCR'in Aşamaları

Her bir PCR siklusu, denaturasyon, primer bağlanması ve uzama aşamalarından oluşmaktadır. Denaturasyon aşamasında, DNA'nın iki zinciri arasındaki zayıf hidrojen bağları sıcaklığın kaynama noktasına yakın bir dereceye çıkarılmasıyla kopmakta ve DNA zincirleri serbest kalmaktadır. Ancak denaturasyon için en etkin sıcaklık değerlerinin 92-95 °C olduğu ifade edilmektedir (10).

Denaturasyon aşamasını takiben sıcaklık 50-60 °C'ye düşürülmekte ve primer bağlanması gerçekleşmektedir. Optimum primer bağlanma ısısının belirlenmesi PCR reaksiyonunun gerçekleştirilmesi açısından büyük öneme sahiptir. Primer bağlanma sıcaklığı, çalışmada kullanılan primerlere göre farklılık göstermektedir. Genellikle bağlanma (annealing temprature) ısısı, primerlerin erime sıcaklığı değerlerinin (temperature melting: Tm) 5 °C altı olarak seçilmektedir (14, 15). Primerlerin Tm değeri primerlerin içerdiği bazların içeriğine göre hesaplanmaktadır. Primer Tm değeri; ((Adenin sayısı + Timin sayısı) x 2 + (Guanin sayısı + Timin sayısı) x 4) formülasyonuna göre hesaplanmaktadır (16).

Primer bağlanma aşamasını uzama aşaması takip etmektedir. Uzama aşamasında, sıcaklığın 72 °C'ye çıkarılmasıyla *Taq* polimeraz enzimi, her iki zincirde de karşılıklı olarak uzamayı gerçekleştirmektedir. *Taq* polimeraz primerlerin 3'OH grubuna bağlanmakta ve deoksinükleotid trifosfat (dNTP) moleküllerinin ekleyerek zinciri uzatmaktadır (11). PCR çalışmalarında genel olarak uzama aşamasında sıcaklık 72 °C olarak belirlenmektedir. Bunun sebebi *Taq* polimeraz enziminin optimum çalışması sıcaklığının 72 °C olmasıdır (8).

Klasik bir PCR reaksiyonu birbirini tekrar eden 30-35 PCR siklusundan oluşmaktadır. Oluşan PCR ürün miktarı her siklus sonunda teorik olarak iki katına çıkmaktadır. Bu nedenle, PCR reaksiyonunun sonunda oluşan toplam ürün miktarı 2^n (PCR siklus sayısı) olarak ifade edilmektedir (14). Bunun anlamı başlangıçta tek bir kalıp DNA'dan PCR reaksiyonu sonucunda 2^n kadar ürün oluşması anlamına gelmektedir. Ortalama 35 PCR siklusu sonunda tek bir kalıptan 2^{35} kadar (35,4 milyar) PCR ürünü oluşmaktadır.

3.3. PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

PCR sonrası oluşan ürünlerin değerlendirilmesinde çeşitli yöntemler kullanılabilir. Ancak, bu yöntemler arasında en basit ve yaygın olanı agaroz jel elektroforezidir. PCR ürünleri agaroz jeldeki kuyucuklara yüklenerek, jel elektroforezinde eksi (-) kutuptan artı (+) kutba yürütülmektedir. DNA'nın negatif yüklü bir molekül olması sebebiyle, yürütme işlemi eksi kutuptan artı kutba doğru gerçekleştirilmektedir. Takiben PCR ürünleri ultraviyole (UV) ışık altında görüntülenerek PCR'ın yükseltgenip yükseltgenmediği kontrol edilmektedir (17). PCR ürünlerinin UV ışık altında incelenebilmesi, DNA'ya bağlanabilen bazı boyalar ile mümkün olmaktadır. Klasik PCR uygulamalarında en yaygın kullanılan boyaların başında etidyum bromid boyası gelmektedir (10, 17). Ancak etidyum bromid nörotoksik bir etkiye sahiptir. Bu nedenle etidyum bromid ile çalışırken dikkat edilmesi gerekmektedir. Etidyum bromid dışında DNA'ya bağlanarak DNA'yı UV ışık halinde görünür hale getiren PicoGreen, YO, PRO-1, YO-YO-1 gibi farklı boyalar da bulunmaktadır (10).

4. Real-Time PCR

Real-Time PCR, her bir PCR siklusu sonunda oluşan ürünlerin gerçek zamanlı olarak görüntülenmesine olanak tanımaktadır. Oluşan PCR ürünlerinin gerçek zamanlı olarak görüntülenmesinde özgül olmayan boyalar veya özgül oligonükleotid prob temelli yöntemler kullanılmaktadır (18). Özgül olmayan boyalardan en yaygın kullanılanı SYBR Green I boyasıdır. Bu boya DNA'ya bağlanarak floresan ışımaya yapmaktadır (19). Ancak SYBR Green I boyası çift zincirli olan tüm DNA moleküllerine bağlanabilmektedir. Bu nedenle özgünlüğü prob temelli yöntemlere göre daha düşüktür. Oligonükleotid prob temelli yöntemlerde ise probun sadece hedef bölgeye bağlanması nedeniyle özgünlüğü daha yüksektir. Yaygın kullanılan oligonükleotid problemleri Taqman prob, moleküler boncuk ve hibridizasyon prob yöntemidir (18, 20).

Gen ifadesi veya daha yaygın bilinen şekliyle gen ekspresyonu terimi, DNA üzerindeki genetik bilginin ifade edilmesi sürecini tanımlamaktadır. DNA'daki bilgi tüm somatik hücrelerde aynı olmasına rağmen, DNA üzerinde bulunan bilginin ifadesi doku düzeyinde farklılık göstermektedir. Bu durum, her dokunun özelleşmiş fonksiyonlar kazanmasına olanak tanımaktadır (20). Genlerin ekspresyonu mRNA ve protein düzeyinde ayrı olarak ele alınmaktadır. Real-Time PCR, genlerin mRNA düzeyindeki ekspresyonlarının kantitatif olarak belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle gen ekspresyonu analizlerinde real-time PCR; kantitatif real-time PCR, real-time kantitatif PCR (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) veya yalnızca qPCR olarak da isimlendirilmektedir (5, 6).

RT-qPCR uygulaması; örneklerin toplanması, RNA izolasyonu, RNA kalite ve kantite kontrolü, DNA digestion uygulaması, komplementer DNA (complementary DNA; cDNA) sentezi, primer dizaynı ve primer etkinliğinin belirlenmesi, RT-qPCR optimizasyonu ve protokolü, housekeeping gen seçimi ve normalizasyon ve istatistiksel analiz aşamalarından oluşmaktadır.

4.1. Örneklerin Toplanması

Klasik PCR'dan farklı olarak real-time qPCR uygulamasında çalışılan genetik materyal RNA'dır. RNA molekülü tek zincirli yapıya sahip olması nedeniyle oldukça kırılğan bir yapıya sahiptir. Bu nedenle toplanan örneklerde hızlı bir şekilde RNA'nın stabilizasyonunun sağlanması önemlidir. QPCR çalışmalarında toplanan doku örneklerinde RNA'nın stabilizasyonu, sıvı azot ile ani dondurma (21) veya RNA Later solüsyonu ile sağlanmaktadır (22). Ani dondurulan örneklerin sonrasında hızlı bir şekilde -80 °C'de muhafaza edilmesi gerekmektedir. RNA Later kullanılması durumunda örnekler kısa süreli olarak oda ısısında veya +4 °C'de, uzun süreli olarak ise -20 °C veya -80 °C'de muhafaza edilebilmektedir (23).

4.2. RNA izolasyonu, Kalite ve Kantite Kontrolleri

RNA izolasyonu qPCR çalışmalarındaki en önemli aşamalardan biridir. Çalışmaların yüksek kalitede RNA ile sürdürülmesi gerekmektedir. Ayrıca, cDNA aşamasında tüm örneklerdeki total RNA miktarının olarak eşit olması gereklidir. Bu nedenle de RNA miktarının belirlenmesi önemli bir husustur (20).

Toplanan doku örneklerinden RNA'nın izolasyonu, klasik yöntemlerle veya ticari kitler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Klasik yöntemler,

izolasyonda daha çok kimyasal solüsyonların kullanıldığı yöntemlerdir. Bu amaçla en yaygın kullanılan kimyasal solüsyonlardan biri TRİzol'dür. Ticari kitlerle RNA izolasyonunda ise RNA'nın saflaştırılmasına olanak tanıyan silika membranların bulunduğu kolonlar kullanılmaktadır (21, 24).

İzolasyon sonrası RNA'nın kalite ve kantite kontrollerinin yapılması önemli bir husustur. RNA kalitesinin belirlenmesinde farklı yöntemlerden yararlanılmaktadır. RNA kalitesi en yaygın olarak agaroz jel ve spektrofotometrik yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Agaroz jel elektroforezinde RNA'nın bütünlüğü değerlendirilmektedir. İzolasyon sonrası jeldeki 28S ribozomal RNA (rRNA) ve 18S rRNA bantlarına bakılarak değerlendirme yapılmaktadır. Bu bağlamda, 28S rRNA bandının 18S rRNA bandına oranının yaklaşık olarak 2 olması gerekmektedir (21, 25). Agaroz jelde rRNA bantlarına göre RNA kalitesinin değerlendirilmesi dolaylı bir değerlendirmedir. Bu bağlamda agaroz jelde rRNA bantlarının bütünlüğünün hedef bölgeye ait RNA'nın da bütünlüğünü yansıttığı kabul edilmektedir (26).

RNA kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer yöntem ise spektrofotometrik temelli Nanodrop cihazıdır. Nanodrop cihazında RNA'nın saflığı ile birlikte miktarı da tayin edilmektedir. RNA saflığının değerlendirilmesinde, RNA'nın 260 nanometre ve 280 nanometre dalga boyundaki optik dansite değerlerinin oranı dikkate alınmaktadır. Nükleik asitler 260 nm ve proteinler 280 nm dalga boyunda maksimum absorbans değerine sahipken, kontamine edici faktörler 230 nm ve 320 nm dalga boyunda maksimum absorbans değerine sahiptir. İyi kalitedeki RNA'nın 260/280 optik dansite değerinin >1,8 olması istenmektedir (25).

Belirtilen bu yöntemler dışında RNA kalitesinin belirlenmesinde kullanılan mikrofluidik kapiller elektroforezi (Agilent Technologies; 2100 Bioanalyzer ve Bio-Rad Laboratories; Experion) ve florometrik (Qubit Fluorometer) temelli yöntemler de bulunmaktadır. Kapiller elektroforezi sisteminde bir çip üzerine yüklenen örneklerin elektroferogramdaki pik değerlerine göre değerlendirme yapılmaktadır. Cihazda elde edilen pik değerleri kullanılarak örneklerin 28S/18S oranı hesaplanmaktadır. Ayrıca örneklerin RNA bütünlük değeri (RNA Integrity Number; RIN) değerleri hesaplanarak RNA kalitesi hakkında değerlendirme yapılmaktadır (25).

4.3. DNA Digestion

RNA izolasyonu sonrasında RNA'nın saflığının artırılması amacıyla DNA digestion uygulaması önerilmektedir. DNA digestion uygulamasının amacı izole

edilen RNA içerisinde bulunan çift zincirli DNA'nın yıkımlanmasıdır. Örnek içerisinde bulunan genomik DNA, PCR sırasında hedef mRNA ile birlikte yükseltgenerek yanıltıcı sonuçlara neden olabilmektedir. Genomik DNA'nın belirli bir oranda yükseltilmesi önemsiz kabul edilse de özellikle mRNA miktarının düşük olması durumunda genomik DNA'nın yükseltgenmesinin hedef mRNA'nın yükselttiği şeklinde değerlendirilebileceği ifade edilmektedir (6). DNA'nın yıkımlanmasıyla PCR aşamasında genomik DNA'nın yükseltgenmesi engellenmektedir. DNA digestion aşamasında DNaz enzimi ile genomik DNA yıkımlanmaktadır (27, 28).

4.4. cDNA Sentezi

DNA Digestion aşaması sonrasında mRNA ters transkripsiyon ile cDNA'ya dönüştürülmektedir. CDNA sentezi, revers transkriptaz enzimi ile primerler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Revers transkripsiyonda mRNA spesifik primerler kullanıldığı gibi, total RNA'nın reverse transkripsiyona olanak tanıyan oligo dT primerler veya random heksamer primeler de kullanılabilir (29, 30). Ancak en yaygın kullanılan primerler oligo dT primerler ve random heksamer primerlerdir (29, 31). Olgun mRNA'ların 3' ucunda adenine zengin poli A kuyruğu bulunmaktadır. Oligo dT primerlerin mRNA'ların poli A kuyruğuna bağlanması sonrasında revers transkriptaz enziminin etkinliği ile mRNA'lar cDNA'lara dönüştürülmektedir (31). Random heksamer primerler ise 6 nükleotidin rastgele kombinasyonunu içeren kısa oligonükleotid dizileridir. Random heksamer primerler mRNA'daki eşlenik bölgelere bağlanarak revers transkriptaz enziminin etkinliği ile cDNA sentezine olanak tanımaktadır (32). Elde edilen cDNA'lar qPCR reaksiyonunda kalıp olarak kullanılmaktadır.

4.5. Primer dizaynı ve Primer Etkinliğinin Belirlenmesi

Real-Time qPCR reaksiyonunda klasik primer dizaynından farklı bir yaklaşım izlenmektedir. Primer dizaynı, qPCR verimliliğini büyük ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle, qPCR çalışmaları için primer dizaynında bazı kriterlere dikkat edilmesi gerektiği ifade edilmektedir (20). Bu kriterler aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

1) qPCR reaksiyonunda hedef bölgenin boyutu ideal olarak 75-200 baz çifti, en fazla ise 300 baz çifti uzunluğunda olmalıdır.

2) Primerler, genomik DNA'nın yükseltgenmemesi için intronik bölgeleri atlayacak şekilde dizayn edilmelidir.

3) Primer dizaynı sonrası, primer çiftlerinin genomda olası hedef dışı bölgeyi yükseltgime potansiyeli homoloji araştırması ile kontrol edilmelidir. Eğer tek ekzon içeren bir gen için primer dizayn edilecekce DNA digestion (DNaz) aşaması mutlaka uygulanmalıdır.

4) Primerlerin ikincil yapıları oluşturmayacak şekilde dizayn edilmelidir.

5) Primerlerin GC içeriği %40-70 arasında olmalıdır.

6) Primerlerin bağlanma sıcaklıklarının birbirine yakın olmalıdır.

Dizayn edilen primerlerin etkinliği, qPCR çalışmalarında üzerinde önemle durulan hususlardan biridir. Normal PCR reaksiyonunda her siklus sonunda oluşan ürün miktarı 2^n olarak ifade edilmektedir. Bu durum primer etkinliğinin %100 olması durumunda gerçekleşmektedir. Primer etkinliğinin %100'ün altında olması durumunda beklenenden daha az miktarda PCR ürünü oluşmaktadır. Değerlendirmenin daha çok var-yok, negatif-pozitif şeklinde yapıldığı klasik PCR'nda primer etkinliği göz ardı edilebilecek bir durum olsa da qPCR çalışmalarında kantitatif bir analiz yapılması nedeniyle güvenilir bir değerlendirme için primer etkinliğinin belirli bir değerin üzerinde olması gerekmektedir (20). Bu bağlamda primer etkinlik değerinin en az %90 ve üzeri olması gerektiği ifade edilmektedir. Kabul edilebilir PCR primer etkinlik değeri %90-%110 arasında değişiklik göstermektedir (33).

Primer etkinliğinin hesaplanmasında örneklerden birkaçı veya tamamı kullanılarak veya cDNA havuzu oluşturulmakta ve daha sonra bu havuzdan 10'lu veya 2'li sulandırım serileri (seri dilusyonlar) oluşturularak primer etkinlikleri hesaplanmaktadır (33). Primer etkinliğinin (primer efficiency) hesaplanmasında sulandırım serilerinde elde edilen eğrinin eğimi kullanılmaktadır. Primer etkinliği aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmaktadır (28).

$$E(\%) = (10^{-1/k} - 1) \times 100$$

Bu formülde E primer etkinliğini ifade ederken, k sulandırım serilerinden elde edilen eğrinin eğimini tanımlamaktadır. Eğimin -3,32 olması durumunda primer etkinliği %100 olmaktadır.

4.6. QPCR Optimizasyonu ve Protokolü

RT-qPCR uygulamasında cDNA sentezi sonrasında sonraki aşama kalıp cDNA'nın polimeraz enzimi ve primerler kullanılarak çift zincirli DNA'ya dönüştürülmesidir. Ancak PCR reaksiyonundan önce, ısı döngü cihazı koşulları ve PCR bileşenlerinin optimize edilmesi gerekmektedir (13). Optimizasyon işlemi,

klasik PCR cihazlarında veya real-time PCR cihazında yürütülebilmektedir. Optimizasyonun klasik PCR cihazında yapılması durumunda, spesifite agaroz jelde teyit edilmektedir. Real-time PCR cihazı kullanılması durumunda ise spesifite agaroz erime eğrisi analizi ile ve agaroz jel ile teyit edilmektedir (13).

Real-Time PCR siklusları da klasik PCR ile benzer şekilde denaturasyon primer bağlanması ve uzama aşamalarında oluşmaktadır. İki yöntem arasındaki temel fark, real-time PCR yönteminde oluşan PCR ürünlerinin gerçek zamanlı olarak görüntülenebilmesidir. Ürünlerin gerçek zamanlı olarak görüntülenmesi daha önce de bahsedildiği gibi özgül olmayan SYBR Green I boyası ile veya oligonükleotid problemleri ile gerçekleştirilmektedir. Tüm qPCR reaksiyonu; taban evresi, üssel evre ve plato evresi olmak üzere üç evreye ayrılmaktadır (13, 20). Taban evresinde, her PCR siklusu sonrasında PCR ürünlerinin miktarı artış göstermektedir. Ancak PCR ürünlerinin düzeyi henüz cihaz tarafından tespit edilebilir düzeye ulaşmamıştır. Üssel evre, oluşan PCR ürünleri ile paralel olarak açığa çıkan floresan ışımının tespit edilebilir düzeye ulaştığı evredir. Üssel evrede PCR sinyalinin tespit edilebildiği değer, siklus eşik değeri (cycle threshold; Ct) olarak isimlendirilmektedir. Ct değeri aynı zamanda Cp (crossing point) veya Cq (quantification cycle) olarak da bilinmektedir (28). Bu evrede floresan sinyal artık her siklуста tespit edilebilir seviyededir. Plato evresi ise, PCR sırasında bileşenlerin miktarının ve dolayısıyla da PCR ürün miktarının azalmaya başladığı aşamadır. Yapılan çalışmalarda genelde sinyalin ilk tespit edilebildiği Ct değeri referans alınmaktadır (13).

Sonuçların değerlendirilmesi genel olarak değerlendirmeye alınan maksimum Ct değeri 35'dir. Real-Time PCR reaksiyonunda başlangıçta tek bir kalıp bulunsa dahi bu kalıbın amplifikasyonu ile açığa çıkan floresan sinyalinin en geç 32. siklуста tespit edilebilir düzeye ulaşması gerektiği bildirilmektedir. Ancak primer etkinliği de göz önünde bulundurulduğunda en fazla 35. siklus değerlendirme için referans alınmakta ve Ct>35 sonuçlar negatif olarak değerlendirmektedir (28, 34).

QPCR reaksiyonunda ürünlerin gerçek zamanlı olarak görüntülenmesinde SYBR Green I boyası kullanılması durumunda non-spesifik PCR ürünlerden de sinyal alınması olasıdır. Bu nedenle, SYBR Green I boyası kullanılan çalışmalarda erime eğrisi analizinin yapılması ve agaroz jelde non-spesifik bant oluşumu kontrol edilmesi önerilmektedir (13). Erime eğrisi analizinde non-spesifik PCR ürünlere ait Tm piki olup olmadığı kontrol edilmektedir. Hedef bölgeye ait Tm piki dışında daha düşük veya daha yüksek Tm pikleri qPCR spesifitesinin düşük olduğuna işaret etmektedir. QPCR reaksiyonunda spesifik

PCR ürünlerinin yükseltgenip yükseltgenmediği ayrıca agaroz jelde de kontrol edilmelidir. Bu bağlamda PCR ürününün oluşup oluşmadığı, primer dimer oluşumları veya diğer non-spesifik bant oluşumları agaroz jel elektroforezi ile değerlendirilmektedir (13).

4.7. Housekeeping Gen seçimi ve Normalizasyon

RT-qPCR çalışmalarında sonuçları etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Başlangıç RNA miktarındaki farklılıklar, RNA bütünlüğü (integrity), PCR etkinliği ve örnek yüklemede oluşan farklılıklar RT-qPCR sonuçlarının güvenilirliği açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle elde edilen verilerin değerlendirilebilmesi için normalizasyona ihtiyaç duyulmaktadır (35, 36). RT-qPCR veri normalizasyonunda farklı matematiksel modeller kullanılmaktadır. Bu bağlamda en yaygın kullanılan matematiksel model delta delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) matematiksel modelidir (28). Bu modelde, hedef genin ekspresyon düzeyi çalışılan dokuda housekeeping gen/genlerin ekspresyon düzeyine karşı normalize edilmektedir (36). Normalizasyon sonrası elde edilen değer kat değişimi (fold change) olarak ifade edilmektedir.

Veri normalizasyonunun doğru bir şekilde yapılabilmesi için çalışılan dokuda en stabil olan housekeeping gen veya genlerin normalizasyonda kullanılması gerekmektedir. Housekeeping genler veya diğer bir adıyla referans genler farklı genomik organizasyona sahip olan genlerdir. Housekeeping genler sınıfı içerisindeki genlerin daha kısa intron ve ekzonlara sahip olduğu (37, 38), SINE (short intersperced element) ve LINE (long intersperced element) gibi farklı tekrar dizileri yönünden zengin oldukları (39), 5' UTR'de (untranslated region) tek nükleotid tekrarlarının fazla olduğu (40), promotor bölgelerinin az korunmuş olduğu (41) ve 5' UTR'de nükleozom oluşumunun zayıf olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte promotor bölgelerinde TATA ve CAAT kutularına sahip olmadıkları da bildirilmektedir. RT-qPCR çalışmalarında yaygın olarak kullanılan housekeeping genler; gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH), ubikuitin konjuge enzim, (UBQ), alfa-tubulin (TUBA), 18S rRNA, aktin (ACT1), inorganik pirofosfataz (IPPI), hipoksantin fosforibozil transferaz 1 (HRPT1) ve TATA bağlayıcı protein (TBP) genleridir (20).

Normalizasyon amacıyla kullanılan housekeeping genlerin; ekspresyon düzeyinin çok düşük olmaması, ekspresyonunun hedef genin ekspresyonu ilişkili olmaması ve ekspresyon düzeyindeki varyasyonun düşük olması istenmektedir (42). Livak ve Schmittgen (2001) tarafından geliştirilen matematiksel model aşağıda verilmiştir.

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = \text{Örnek } \Delta Ct - \text{Kontrol } \Delta Ct$$

Normalizasyonda kullanılan diğer yöntemde ise PCR primer etkinlikleri de normalizasyona dahil edilmektedir. Pfaffl ve ark., (2002) tarafından geliştirilen bu yöntemde genlerin relatif ekspresyon (RE) düzeyleri;

$$RE = (E_{\text{hedef}})^{\Delta Ct_{\text{hedef}} (\text{kontrol} - \text{örnek})} / (E_{\text{ref}})^{\Delta Ct_{\text{ref}} (\text{kontrol} - \text{örnek})}$$

matematiksel modeline göre hesaplanmaktadır (43).

4.8. Housekeeping Gen seçiminde Kullanılan Yaklaşımlar

RT-qPCR çalışmalarında başlangıçta, tüm dokularda ve bireylerde ekspresyon düzeyindeki farklılık minimum olan tek bir housekeeping gen ile verilerin normalize edilmesi yaklaşımı benimsenmiştir (42). Bu yaklaşımın ardından çok sayıda housekeeping genin geometrik ortalaması kullanılarak verilerin normalize edilmesi yoluna gidilmiştir. Geometrik ortalama yaklaşımında, bir deneysel hatanın tüm genlerin ekspresyon düzeyini benzer şekilde etkileyeceği kabul edilmektedir (44). Bu nedenle, hedef genin ekspresyon düzeyinin belirlenmesinde geometrik ortalama yaklaşımının tek bir housekeeping gene oranla daha etkili olduğu ifade edilmektedir (42). Geometrik ortalama temelli bu yaklaşıma dayanan bir algoritma geliştirilmiştir. Bu algoritma geNorm programıdır. GeNorm, Excel temelli bir program olup, housekeeping genlerin stabilitelere göre sıralanmasında kullanılmaktadır (44).

GeNorm programı, girilen verilere göre M değeri hesaplamaktadır. M değeri düşük olan housekeeping genin stabilitesi artmaktadır. M değeri için eşik 1,5 değeridir. GeNorm manuel veya otomatik analiz seçeneği ile en stabil iki housekeeping gen kalana kadar stabilitesi düşük housekeeping gen adaylarını elemektedir. Ayrıca GeNorm ekspresyon düzeylerindeki varyasyonları göz önünde bulundurularak çalışmadaki normalizasyon için kaç housekeeping genin kullanılması gerektiğini belirtmektedir. Varyasyon düzeyinin eşik düzeyi 0,15 olup, bu değer arttıkça kullanılması gereken housekeeping gen sayısı da artmaktadır. Bu aşamanın uygulanması önerilmektedir. Ancak kullanımının zorunlu olmadığı belirtilmiştir (44).

Housekeeping gen seçimi amacıyla geliştirilmiş diğer program BestKeeper programıdır. BestKeeper housekeeping gen adaylarını çift yönlü korelasyon analizine tabi tutarak aday genlerin stabilitesini belirlemektedir. Program örneklerin geometrik ortalamalarına göre BestKeeper indeksi oluşturmada, daha sonra bu indeksi korelasyon analizi için kullanılmaktadır. Korelasyon

katsayısı istatistiki açıdan önemli derece de yüksek olan aday genlerin stabilitesi yüksek kabul edilmektedir (45). Program ayrıca verilerin (Ct/Cp değerleri) tanımlayıcı istatistik değerlerini oluşturarak, standart sapma (standart deviation; SD) değeri yüksek olan housekeeping gen adaylarını belirlemektedir. BestKeeper programında ortalama ekspresyon seviyesinden 3 kata kadar sapma gösteren (ortalamanın altında veya üzerinde) aday genlerin değerlendirmeden çıkarılması ve bu genlerle veri normalizasyonunun sonuçları olumsuz etkilediği bildirilmektedir (45). Bazı çalışmalarda SD değeri stabilite için direkt bir ölçüt olarak kullanılabilir. Ancak BestKeeper programında stabilite değerlendirmesi için çift yönlü korelasyon analizinin daha güvenilir olduğu bildirilmektedir (46).

Housekeeping gen seçimi amacıyla geliştirilmiş bir diğer program NormFinder'dır. NormFinder programı, aday genlerin stabilitesini, hesapladığı stabilite değerine (stability value) göre değerlendirmektedir. Stabilite değeri düşükçe housekeeping gen adayının stabilitesi artmaktadır. Program girilen verilere göre en satabil housekeeping gen veya genleri belirlemektedir (47).

4.9. İstatistiksel Analiz

RT-qPCR analizinin son aşamasında verilerin istatistiksel analizinde, Ct/Cp değerleri arasındaki farklılıkların belirlenmesinde farklı istatistiksel yöntemler kullanılmaktadır. Normalizasyon sonrası elde edilen verinin dağılımı, çalışılan gruplardaki örnek miktarı gibi farklı faktörler uygun istatistiksel yaklaşımların belirlenmesinde etkili olmaktadır. Bu bağlamda qPCR'da verilerin istatistiksel analizinde parametrik veya non-parametrik yöntemler tercih edilebilmektedir. İki'den fazla grubun olması ve verilerin normal dağılım göstermesi durumunda genellikle parametrik testler tercih edilirken (ör. ANOVA) (43) verilerin normal dağılım göstermemesi durumunda non-parametrik testler (Kruskal-Wallis) tercih edilmektedir (48). İkili grup karşılaştırmalarında ise genellikle non-parametrik testlerden Mann-Whitney U testi ve parametrik testlerden iki örnek T-testi kullanılmaktadır (49).

5. Sonuç

RT-qPCR uygulaması gen ekspresyonunun kantitatif olarak belirlenmesinde en yaygın kullanılan moleküler yaklaşımdır. Bu bağlamda, başta moleküler biyoloji ve genetik alanı olmak üzere çok farklı alanlarda kullanım alanı bulmaktadır. Bununla birlikte, gen ekspresyonunun kantitatif olarak belirlenmesine yönelik

yeni moleküler yaklaşımlar geliştirilmiştir. Özellikle microarray tabanlı yöntemler ile aynı anda çok sayıda genin ekspresyon düzeyinin belirlenmesi mümkün olmaktadır. Ancak RT-qPCR, microarray sonuçlarının doğrulanmasında da kullanılmaktadır. Bu nedenle, RT-qPCR yönteminin gen ekspresyonlarının kantitatif olarak belirlenmesinde hâlâ bir altın standart olduğu söylenebilir.

Kaynaklar

1. Higuchi R, Fockler C, Dollinger G et al. Kinetic PCR: Real time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*. 1993;11:1026-30.
2. Ingham DJ. The study of transgene copy number and organization. *Methods Mol Biol*. 2005;286:273-90.
3. Johnson VJ, Yucesoy B, Luster MI. Genotyping of single nucleotide polymorphisms in cytokine genes using real-time PCR allelic discrimination technology. *Cytokine*. 2004;27:135-41.
4. Sethi N, Palefsky J. Transcriptional profiling of dys-plastic lesions in K14-HPV16 transgenic mice using laser microdissection. *FASEB J*. 2004;18(1):1243-45.
5. Kozera B, Rapacz M. Reference genes in Real-Time PCR. *J Appl Genetics*. 2013;54:391-406.
6. Green MR, Sambrook J. Quantification of RNA by Real-Time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). *Cold Spring Harb Protoc*. 2018;10:847-56.
7. Valasek MA, Repa JJ. The power of real-time PCR. *Adv Physiol Educ* 2005;29(3):151-9.
8. Bartlett JM, Stirling D. A short history of the polymerase chain reaction. Barlett JM, Stirling DA Editors. *PCR protocols*. 2003. 3-6.
9. Lawyer F, Stoffer S, Saiki R et al. Highlevel expression, purification, and enzymatic characterization of full-length *Thermus aquaticus* DNA polymerase and a truncated form deficient in 5' to 3' exonuclease activity. *PCR Methods Appl*. 1993;2:275–287.
10. Arı Ş. 2017. DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Çoğaltılması. Temel ve İleri Moleküler Biyoloji Yöntemleri Genomik ve Proteomik analizler. Editörler Güler Temizkan, Nazlı Arda. Nobel Tıp Kitapevleri. 399-412.
11. McPherson M, Møller S. *PCR*. Taylor & Francis. 2000.
12. Saiki, R. K. The design and optimization of the PCR, in *PCR Technology* (Erlich, H. A., ed.), Stockton Press, New York, 1989:7–16.

13. Fraga D, Meulia T, Fenster S. Real-time PCR. Current protocols essential laboratory techniques. John Wiley & Sons, Inc. 2008. 1-40.

14. Ishmael FT, Stellato C. Principles and applications of polymerase chain reaction: basic science for the practicing physician. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008;101(4):437-443.

15. Bustin SA. Why the need for qPCR publication guidelines? The case for MIQE. *Methods.* 2010; 50(4):217-226.

16. Chen H, Zhu G. Computer program for calculating the melting temperature of degenerate oligonucleotides used in PCR or hybridization. *Biotechniques.* 1997;22(6):1158-1160.

17. Lee PY, Costumbrado J, Hsu CY, Kim YH. Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *JoVE.* 2012;62:e3923.

18. Günel T. Gen anlatımının kantitatif analizi “Real-Time PCR”. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2007;27:763-767.

19. Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using realtime reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol.* 2000;25:169-93.

20. Gürel F. Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPCR) ile Gen anlatımının Analizi. Editörler Güler Temizkan, Nazlı Arda. *Temel ve İleri Moleküler Biyoloji Yöntemleri Genomik ve Proteomik Analizler. Nobel Tıp Kitapevleri.* 2017:399-312.

21. Nilsen TW. The fundamentals of RNA purification. *Cold Spring Harb Protoc* 2013;7:618-24.

22. Nielsen H. Working with RNA. Nielsen H, Editor. *Methods in Molecular Biology.* 2010:15-28.

23. Mutter GL, Zahrieh D, Liu C, et al. Comparison of frozen and RNALater solid tissue storage methods for use in RNA expression microarrays. *BMC genomics.* 2004;5(1):1-7.

24. Tan SC, Yiap BC. DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present. *J Biomed Biotechnol.* 2009;2009:1-10.

25. Becker C, Hammerle-Fickinger A, Riedmaier I et al. mRNA and MicroRNA quality control for RT-qPCR analysis. *Methods.* 2010;50(4):237-243.

26. Die JV, Román B. RNA Quality assessment: A view induces from plant qPCR Studies. *J Exp Bot.* 2012;63(17):6069-6077.

27. Nolan T, Bustin SA. Procedures for quality control of RNA samples for use in quantitative reverse transcription PCR. Keer JT, Birch L. Editors. In: *Essentials of Nucleic Acid Analysis: A Robust Approach*, 2008:189-207.
28. Bustin SA, Benes V, Garson J et al. The MIQE guide-lines: minimum information for publication of quanti-tative real-time PCR experiments. *Clin Chem*. 2009;55:611-622.
29. Stahlberg A, Hakansson J, Xian X et al. Properties of the reverse transcription reaction in mRNA quantification, *Clin Chem* 2004;50: 509-515.
30. Okutucu B, Pehlivan S. Reverz-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve Uygulama Alanları. *Arşiv Kaynak Tarama Derg.* 2003;12(2):138-148.
31. Weber CF, Kuske CR. Comparative assessment of fungal cellobiohydrolase I richness and composition in cDNA generated using oligo (dT) primers or random hexamers. *J Microbiol Methods*. 2012;88(2):224-228.
32. Stangegaard M, Høgh Dufva I, Dufva M. Reverse transcription using random pentadecamer primers increases yield and quality of resulting cDNA. *Biotechniques*. 2006;40(5):649-657.
33. Taylor S, Wakem M, Dijkman G et al. Practical approach to RT-qPCR-Publishing data that conform to the MIQE quidelines. *Methods* 2010;50(4):1-5.
34. Kirshstein JD, Anderson CW, Wood JS et al. Quantitative PCR detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* DNA from sediments and water. *Dis Aquat Org*. 2007;77(1):11-15.
35. Huggett J, Dheda K, Bustin S et al. Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations. *Genes Immun*. 2005;6(4):279-284.
36. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 2001;25(4):402-408.
37. Eisenberg E, Levanon EY. Human housekeeping genes are compact. *Trends Genet*. 2003;19:362-365
38. Carmel L, Koonin EV. A universal nonmonotonic relationship between gene compactness and expression levels in ulticellular eukaryotes, *Genome Biol Evol*. 2009;1:382-390.
39. Eller CD, Regelson M, Merriman B et al. Repetitive sequence environment distinguishes housekeeping genes. *Gene*. 2007;390:153-165.
40. Farré D, Bellora N, Mularoni L et al. Housekeeping genes tend to show reduced upstream sequence conservation, *Genome Biol*. 2007; 7:1-10.

41. Lawson MJ, Zhang L. Housekeeping and tissue-specific genes differ in simple sequence repeats in the 50-UTR region. *Gene*. 2008; 407:54–62.

42. Chervoneva I, Li Y, Schulz S et al. Selection of optimal reference genes for normalization in quantitative RT-PCR. *BMC Bioinformatics*. 2010;11(1):1-15.

43. Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(9):e36

44. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F. et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol*. 2002;3(7): 1-11.

45. Pfaffl MW, Tichopad A, Prgomet C, et al. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper-Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotech Lett*. 2004;26(6):509-515.

46. De Spiegelare W, Dern-Wieloch J, Weigel R et al. Reference gene validation for RT-qPCR, a note on different available software packages. *PloS one*. 2015;10(3):e0122515.

47. Andersen CL, Jensen JL, Ørntoft TF. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets, *Cancer Res*. 2004;64(15):5245-5250.

48. Pacha-Herrera D, Vasco G, Cruz-Betancourt C et al. Vaginal microbiota evaluation and lactobacilli quantification by qPCR in pregnant and non-pregnant women: a pilot study. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10(303):1-13.

49. Ganger MT, Dietz GD, Ewing SJ. A common base method for analysis of qPCR data and the application of simple blocking in qPCR experiments. *BMC Bioinformatics*. 2017;18:1-11.

BÖLÜM X

SIĞIRLARDA SKORLAMA YÖNTEMLERİ

Scoring Methods in Cattle

**Ahmet Cihat TUNÇ¹ & Mustafa KABU² &
Fatih Mehmet BİRDANE³**

¹(Öğr. Gör. Dr.), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye
e-mail: cihattunc@aku.edu.tr
ORCID: 0000-0002-6296-6762

²(Doç. Dr.), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye
e-mail: mkabu@aku.edu.tr
ORCID: 0000-0003-0554-7278

³(Prof. Dr.), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye
e-mail: fatihbirdane@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-0026-800X

Hayvanlarda hastalıkların tanımlanması kadar hastalığın şiddeti, yaygınlığını belirleme veya prognozu hakkında subjektif değerlendirmeler yerine belirlenmiş seviyeler ile skorlama yapmak oldukça faydalıdır. Bu durum sadece hastalık skorlaması değil aynı zamanda takibin doğruya yakın olmasını, bireysel subjektif değerlendirmelerden kurtulma, farklı kontrol ve gözlemcilerin benzer ölçü yöntemleri ile değerlendirmesini ve bilimsel karşılaştırmayı sağlayacaktır. Az, çok, sulu, katı, yağlı, zayıf gibi bilinen değerlendirmelerin ‘ne kadar?’ sorusuna cevap vermek için düzenlenmektedir. Her ne kadar bu skorlamalar farklı kaynaklarda farklı seviyeler ile verilmiş olsa da düzeylere ayırma yaklaşımı ile yapılmışlardır. Ama skorlamayı nasıl veya

kime göre yaptığınızı net olarak söylemeniz gerekmektedir. Hangi metoda göre değerlendirdiğinizi bildirmez iseniz skorlamayı 2 olarak belirlediğiniz 10 basamaklı bir skorlamada 5 basamaklı başka bir skorlama ile aynı şeyi ifade etmeyecektir.

Hayvanların veri kayıtları, sürü yönetimini oluşturan önemli temel parçalardan bir tanesidir. Kayıtlar olmadan, yönetimdeki değişikliklerin etkisini ölçmek veya bir hayvanın bireysel performansını değerlendirmek oldukça güçlkle yapılabilmektedir. Koşulları puanlama, hayvan sağlığını takip etmeye ve vücut rezervlerindeki değişiklikleri izlemeye yardımcı olmaktadır. Düzenli olarak takip edilen üreme, üretim sağlığı ve besleme/ otlatma kayıtları işletme yönetimine önemli ölçüde gelişme sağlamaktadır. Bu kayıtlar tutulurken oldukça basit ve anlaşılabilir olmasına dikkat edilmelidir. Bunlara ek olarak ineklerin kaliteli bir soya sahip olmaları, dayanıklı bir vücut yapısına, verimli ölçülerde bir meme yapısına, büyük cüssesini taşıyacak yapıda ayak, tırnak ve bacak yapısına sahip olması gerekmektedir. Bununla birlikte, ekonomik açıdan önemli olmamalarına rağmen, ancak görsel olarak belirlenebilen özellikler de bulunmaktadır. Hayvanın dış görünüş özelliklerinin dikkate alındığı bu değerlendirmeye "dış görünüş özelliklerine göre değerlendirme", "morfolojik değerlendirme", "skorlama" veya "sınıflandırma" adı verilmektedir. Bu skorlama yöntemleri ile sürüde hastalık takibi, performans düzeyi ve refah düzeyi takip edilebilmektedir. (1,2)

Pek çok durum için skorlamalar yapılmış olsa da en çok tercih edilen ve takip edilmesi istenen skorlamalar aşağıda verilmiştir.

Vücut kondüsyon skoru (VKS)(Body condition score-BCS): Gözle vücut yağ ve kas miktarı tahmini veya zayıf/şişman kararı vermektir.

Hareket/Laminit Skoru (Locomotion/lameness score): Düz bir zeminde sığırın yürüyüş, basış, denge ve asimetri kontrolü

Hijyen Skoru: Meme, ayak ve vücuttaki dışkı kirliliğinin skorlanması

Rumen Skoru: Rumende dolgunluk, açlık veya bir kaç saatlik beslenme durumu

1. Rumen Skoru

Özellikle sol fossa paralumbar bölgenin yandan ve arkadan incelenmesi ile karar verilir. Açlık, yem alımı, yemleme sıkıntıları ve kısmen de VKS nin ilişkili olduğu durumları değerlendirmek için kullanılır.

Tablo1: Rumen Skorlaması

1	Sol fossa paralumbar bölge hem yandan hem de arkadan çöküktür. Fossa paralumbar bölge üçgen şeklinde belirgindir. Bu gölgenin etrafındaki kas ve ligamentler karın altına kadar belirgindir (Uzun süreli açlık, kronik yem alım eksikliği)
2	Sol fossa paralumbar bölge hem yandan hem de arkadan çöküktür. Fossa paralumbar bölge üçgen şeklinde belirgindir. (rumen atonisi, kısmi açlık)
3	Sol fossa paralumbar bölge yandan kısmen çöküktür. Fossa paralumbar bölge belirgindir ancak üçgen şeklinde kas-kemik sınırları yoktur
4	Fossa paralumbar bölge sınırları belirgin değildir. Hafif bir çöküntü vardır.
5	Fossa paralumbar bölge sınırları belirgin değildir. Çöküntü bulunmaz. Processus transversus sınırı gözle açıkça görülmez.(Aşırı yem, yeni yem yemek, şişmanlık)
6	Fossa paralumbar bölge arkadan bakıldığında dışarıya doğru bombe yaparak Processus transversus sınırının üzerine çıkmıştır. (Aşırı yem, asidoz, şişmanlık, timpani başlangıcı)

2. Kondisyon Skorlaması

Vücut kondisyon skorlaması (VKS), süt sığırcılığı dahil birçok türdeki enerji rezervlerindeki değişiklikleri değerlendirmek için kullanılan en pratik yöntem olarak kabul edilmektedir. Birçok kişi VKS'yi bir beslenme takibi ve uygulaması olarak görmektedir. Buna rağmen VKS, sığır yetiştiriciliğinde süt verimi, sürü sağlığı, üreme performansı, hayvan sağlığını takip etme, genel çiftlik karlılığını değerlendirme ve eylem planı oluşturma açısından önemli derecede faydalı etkilere sahiptir. Üreme dönemindeki bozukluklar, sığırlarda geçiş dönemindeki problemler ve hayvan refahı ile ilgili zorluklar son zamanlarda VKS'ye olan ilgiyi arttırmıştır. Hem mutlak VKS hem de özellikle buzağılamada ve erken laktasyon döneminde VKS'deki değişiklikler, hayvan sağlığını ve üremesini etkilemektedir. Yeni teknolojik gelişmeler VKS verilerinin toplanmasını ve kullanılmasını kolaylaştırmaktadır. Bununla birlikte, ineklerin enerji rezervlerini yönetme yeteneklerindeki genetik farklılıklar, VKS'nin genetik analizlere dahil edilmesine olan ilgiyi de arttırmıştır.(3)

Subjektif bir VKS sistemine ilişkin ilk referans, 1960'ların başında koyunlar için geliştirilen bir puanlama sistemi ile yapılmıştır. (4) Bu sistem daha

sonra 1970'lerde sığırlar için değiştirilmiş olup, daha sonra VKS kriterlerinin temeli atılmıştır.(5) Sığırlarda vücut kondisyon skorlaması, kuyruk başı (kök) kalınlığını değerlendirmek üzere tahmini olarak, 0 (çok zayıf) ila 5 (aşırı derecede şişman) puan arasında yarı puanlamalı, 11 puanlık bir ölçeklemeden oluşmaktadır. Birçok vaka da National Institute for Research in Dairying (NIRD) uyarlaması olan, kuyruk başı puanı kullanılmaktadır, ancak bel puanı büyük ölçüde farklıysa gerekli düzeltmeler yapılmalıdır.(6,7) Yöntem şu kriterlerden oluşur:

- Her iki alanı da puanlamak için doğrudan hayvanın arkasında durun.
- Şişmanlık durumunu hissederek kuyruk başı alanlarını puanlayın.
- Bel bölgesini benzer şekilde puanlayın.
- Puanları en yakın yarı noktaya kadar değerlendirin.
- Bel skoru bir puan veya daha fazla farklılık gösterirse, isteğe bağlı olarak bir sonraki en yakın puanı belirtmek için + veya - yarım puan olarak ekleyerek, kuyruk başı puanlarını ayarlayın.
- Düzeltilmiş kuyruk başı puanı VKS olarak kullanılır.(7)

Vücut kondisyon skorunun değerlendirilmesi Tablo 2 de yapılmıştır.

Tablo 2: Vücut Kondisyon Skorunun Değerlendirilmesi

Açıklama	VKS	Toplam Vücut Yağ İçeriği, Kg
Çok Zayıf	1.0	<50
Düşük Kalite	1.5	50
Yetersiz	2.0	76
Orta Derece	2.5	98
İyi	3.0	122
Çok İyi	3.5	146
Şişman	4.0	170
Yağlı	4.5	194
Obez	5.0	>194

Kaynak: Schröder ve Staufenbiel, 2006.

Son 25 yıl boyunca, dünya genelinde çeşitli VKS sistemleri tanımlanmış ve araştırılmıştır. Tüm VKS sistemleri daha düşük puan alan zayıf hayvanlara ve daha yüksek puan alan şişman hayvanlarına sahip olan sayısal bir ölçeklendirme üzerinedir. Tablo 3'de, dünyada halen kullanılmakta olan birincil VKS sistemleri,

her sistem için ölçek, aralık, puan sayısı, birincil araştırmacılar ve değerlendirme yöntemi ile birlikte tasvir edilmiştir. Kapsamlı literatür taramaları ve saha çalışmaları ile VKS geliştirilmiş ve son olarak hayvanı palpe etmeden yapılacak, bir sistem kadar uluslararası bir standarda yakın şekilde geliştirilmiştir.(8-13)

Tablo 3: Uluslararası Vücut Kondisyon Skorlama Sistemleri

Ülke	Skala	Aralık (Puan)	Kaynak	Görsel veya Palpasyon
İngiltere, İrlanda	0 – 5	0.5 (11)	Lowman ve ark. (1976); Mulvany (1977)	Palpasyon
ABD	1 – 5	0.25 (17)	Wildman ve ark. (1982); Edmonson ve ark (1989); Ferguson ve ark. (1994)	Görsel
Yeni Zelanda	1 - 10	0.5 (19)	MacDonald ve Roche (2004)	Palpasyon
Avustralya	1 - 8	0.5 (15)	Earle (1976)	Görsel
Danimarka	1 - 9	1 (9)	Landsverk (1992)	Görsel

Kaynak: Bewley ve ark., 2008

Yeni Zelanda ve Birleşik Krallık-İrlanda VKS sistemleri belirli vücut kısımlarını palpe etmeyi içerirken, Amerika Birleşik Devletleri ve Avustralya’da kullanılan sistemler tamamen görsel değerlendirmeye dayanmaktadır. Birleşik Krallık sisteminde, kuyruk kökü’nün palpasyonundan sonra bir puan verilir. Daha sonra, bel benzer şekilde puanlanır. Kuyruk kökü (tailhead) puanı ve bel skorları bir puan veya daha fazla farklılık gösterirse, final skoru tailhead’e dayanır, ancak yarım puan olarak ayarlanır. Yeni Zelanda sistemi arkadan bakıldığında inek hatlarına daha fazla odaklanır.(1,14,15)

2.1. Vücut Kondisyon Skoru ve Hastalıklar

Metabolik hastalık oranları genellikle artan süt üretimi ve sürü büyüklüğü ile artmaktadır. Laktasyonun her aşamasında optimal VKS için, inekleri yönetmenin en büyük sırrı hayvan sağlığında ki iyileştirmelerden geçmektedir. İngiliz araştırmacılar, şişman ineklerinin zayıf ineklere göre önemli ölçüde daha fazla periparturient hastalık vakası yaşadığını bildirmiştir. Ancak, yapılan araştırmalarda mutlak VKS ile sağlık problemleri arasındaki ilişki değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenliği incelemek için yapılan araştırmaların sınırlı kalmasındaki en büyük etken, puan aralıklarındaki hayvan eksikliği olduğu dikkati çekmiştir.(16-19)

2.1.1. Ketozis ve Hipokalsemi

Yapılan çalışmalar arasındaki en tutarlı ilişki, buzağılamada VKS'si yüksek olan inekler için ketozis görülme sıklığının arttığı yönünde olmuştur. Ketozis, vücut dokularında ve sıvılarda yağ parçalanmasının ara ürünleri olarak artan keton cisimleri ile karakterizedir. Negatif enerji dengesi sırasında, özellikle aşırı beslenmiş inekler için NEFA seviyeleri yükselmektedir. İsrail de yapılan bir çalışmada, buzağılamadaki her bir buzağılama sayısı VKS birimi ≥ 3 inekler için, ketozis riski 2,2'lik bir oranla ilişkilendirilmiştir. Geçmiş dönemde yapılan araştırmalarda 3.5 VKS ile buzağılama yapan ineklerin, VKS 2.0 ile buzağılama yapan ineklere göre ketozis olma riskinin 2 kat fazla olduğu bildirilmektedir. Buzağılamada hem klinik hem de subklinik ketozis insidansının VKS ile arttığını bildirmiştir. Yapılan çalışmalarda, buzağılamadan önce VKS > 3.25 olan ineklerin ve ilk 8 haftalık laktasyon sırasında > 0.75 VKS birimi kaybeden ineklerin subklinik ketozis belirtileri gösterdiği bildirilmiştir.(10,20-22)

Hipokalsemi veya doğum parezi, genellikle buzağılamayı izleyen ilk birkaç gün içinde meydana gelen, kan kalsiyum eksikliğinden kaynaklanan doğum felci olarak tanımlanmaktadır. Hollanda da yapılan çalışmada, normal veya zayıf inekler ile karşılaştırıldığında şişman ineklerin (VKS ≥ 4.0) hipokalsemi olma olasılığının 3.3 olduğunu belirtmektedir. Öte yandan, doğum öncesi son 2 haftada hipokalsemi ile VKS arasında bir ilişki net şekilde ortaya konulamamıştır.(10,20-24)

2.1.2. Metritis ve Retensiyon Sekundinarum

Metrit, erken laktasyon döneminde yaygın olarak görülen uterus zarının inflamasyonu olarak tanımlanmaktadır. Geçmiş yıllarda yapılan karşılaştırmalarda, $< 0,5$ VKS birimi kaybeden ineklerde (% 6), 0,5 ila 1,0 VKS birimi kaybeden ineklerde (% 22) ve $> 1,0$ VKS birimi kaybeden ineklerde (% 47) metrit insidansı olduğunu bildirilmiştir. Kuru dönemde daha fazla VKS kaybeden ineklerin metrit yaşama ihtimalinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Kuru dönemde ve "erken laktasyon" arasında ≤ 1 puan VKS kaybeden ineklerde, kuru dönemde > 1 puan kaybeden ineklerden çok daha yüksek metrit insidansı olduğu yapılan araştırmalar ile ortaya konulmuştur.(23,25,26)

Retensiyon Sekundinarum (RS) veya metrit görülme olasılığı üzerine yapılan araştırmalarda, buzağılamadaki her VKS ek birimi için 0.7'lik bir oran hesaplanmış, bu da buzağılamada daha yüksek VKS'ye sahip olan ineklerin, RS yaşama ihtimalinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Başka bir deyişle, VKS ≥ 3.25 olan ineklerin, VKS ≤ 3.0 olan ineklere göre RS insidansının önemli

ölçüde daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, çoğu çalışma retensio sekundinarum insidansı ile VKS arasındaki ilişkiyi net bir şekilde ortaya koyamamaktadır.(26,27)

2.1.3. Laminit

Araştırmacılar şişman ineklerin taşıdıkları ekstra ağırlık ile ilişkili artan mekanik stres nedeniyle daha fazla topallık yaşayabileceğini bildirmiştir. Gerçekten de, çalışmalarda kuru dönem de (≥ 4.0) aşırı kondisyonlu ineklerin, sonraki laktasyonda iyi durumda ineklerden daha fazla ayak problemi yaşadığını ve yüksek kondisyonlu ineklerin 7 kat daha fazla oranla ayak problemi yaşadığı ortaya konulmuştur. Almanya da yapılan bir çalışmada, buzağılama ve erken laktasyon döneminde VKS >3.0 olan ineklerde laminit görülme oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.(28-30)

2.1.4. Kistik Ovaryum, Güç Doğum ve Mastitis

Kuru dönemdeki aşırı kondisyonlu ineklerin (≥ 4.0) bir sonraki laktasyonda kistik ovaryum riskinin, iyi kondisyonlu olan ineklere göre 2.5 kat daha fazla olduğu geçmiş yıllarda yapılan araştırmalarla tespit edilmiştir. Kuru dönemde daha fazla VKS kaybeden ineklerin, her kayıp VKS ünitesi için inaktif ovaryumlara sahip olma ihtimalinin 2.1 kat daha fazla olduğu düşünülmektedir. Laktasyonun birinci ve ikinci aylarında sırasıyla daha fazla VKS kaybeden inekler için 18.7 ve 10.9'luk kistik ovaryum görülme olasılığı hesaplanmıştır. Geçmiş yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, kuru dönemde daha fazla VKS kaybeden ineklerin, güç doğumlar için daha yüksek risk altında olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, bu ilişkiyi inceleyen çalışmaların çoğunda kesin bir sayısal oran bulamamışlardır.(28,31)

VKS ile mastitis arasındaki ilişki tam olarak ortaya konulamamakla beraber yapılan bazı araştırmalarda sınırlı oranda bir etkinin olduğu düşünülmektedir. Örneğin doğum sayısı 1 ve 2 olan ineklerde somatik hücre skorlarının azaldığı ve buzağılamada VKS artışı ile doğum sayısı 3 olan ineklerde somatik hücre skorlarının arttığı ortaya konulmuştur. Ancak bu çalışmalarda klinik mastitis oranlarının VKS ile anlamlı bir şekilde ilişkili olmadığı görülmüştür.(30,32)

2.1.5. Abomazum Deplasmanları

Abomasum deplasmanı, ineklerde abomazumun normal konumundan sol veya sağ tarafa deplase olması olarak adlandırılmaktadır. Farklı buzağılama gruplarında yapılan bir çalışmada, prepartum son 2 hafta sırasında ölçülen

yüksek VKS ($\geq 3,5$)'li ineklerde abomazum deplasmanı görülme sıklığının arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, erken laktasyon döneminde VKS kaybı olan ineklerde, abomazum deplasmanı olma ihtimalinin daha yüksek olduğu da yine geçmiş dönemde yapılan araştırmalarda ortaya konulmuştur.(29,33,34)

3. Sığırlarda Solunum Yolu Hastalıklarında Skorlama

Sığır yetiştiriciliğinde görülen; laktasyonda tedavi gideri, ölüm oranı, erken doğum, büyüme geriliği, infertilite ve süt üretiminin azalması, buzağuların solunum hastalıklarına atfedilen ekonomik maliyetler önemli bir ekonomik kayba neden olmaktadır. Özellikle pnömonilerin sebepleri çok fazladır; çiftlik personeli tarafından solunum yolu hastalığı klinik bulgularının zayıf bilgisi, yanlış tespit yöntemleri, solunum hastalığı taramasının uygun olmayan zamanlaması, personel kısıtlamaları, ekipman yetersizliği, hayvan teması ve diğer çevresel etkiler göz önünde bulundurulduğunda maliyetler daha da artış göstermektedir. Neonatal dönemde buzağularda hastalık için düzenli çiftlik taraması nadiren yapılmaktadır. Bunun yerine, iştah temelli gözlemler veya diğer ampirik ölçümler, hasta buzağuların tespit edilmesinin temelini teşkil etmektedir. Solunum yolu hastalığı için düzenli tarama yapılmazsa, çiftliklerde buzağı solunum yolu hastalığı tespiti güçlükle yapılmaktadır. Solunum skorlama sistemi ile erken tanıma, çiftlik protokolüne bağlı olarak daha fazla teşhis imkanı ile birleştirildiğinde bu maliyetler önemli ölçüde azaltılabilmektedir.(35)

Tablo 4'de açıklanan klinik bulgulara dayalı solunum skorlama sisteminin temeli, iki veya daha fazla muayene parametresinin orta veya ciddi derecede anormal olması durumunda solunum yolu hastalığının varlığı şeklinde değerlendirilmelidir. Klinik işaretler normal (0), hafif derecede anormal (1), orta derecede anormal (2) ve ciddi derecede anormal (3) olarak yapılır ve puanlar 0-3 arasındadır. Toplam solunum skoru ≥ 5 olan, 2 - 3 skorlu ve iki veya daha fazla klinik parametreye sahip olan buzağularda solunum yolu hastalığının varlığı kabul edilmektedir. Solunum skorlama sistemi, bir çiftliğin buzağı sağlık tarama programında kullanılan araçlardan biri haline gelebilir. Başarılı bir tarama programının şu üç bileşeni bulunmaktadır: (1) günlük gözlemler; (2) haftada iki kez tarama testleri; ve (3) tanımlanmış bir muayene süreci. Başlangıçta işletmeler de tedavi edilen buzağuların, tedavi maliyetlerinin, solunum morbiditesinin ve veteriner hekim ihtiyaçlarının sayısında artışla karşılaşabilir. Bununla birlikte, zaman geçtikçe solunum yolu hastalığından kaynaklı ölüm oranının azalması

beklenmektedir. Süreç daha da ilerledikçe hasta buzağı sayılarında, tedavi gün sayısında, hastalık nökslerinde, tedavi maliyetlerinde, morbidite ve mortalite oranlarındaki azalmanın görülmesi beklenmektedir.(35)

Tablo 4: Solunum Yolu Hastalıkları Skorlaması İçin Kullanılan Klinik Parametreler ve Puan Ölçekleri

Klinik Parametreler	Puan ve Açıklama			
	0	1	2	3
Rektal Sıcaklık	37.8 – 38.2 °C	38.3-38.8°C	38.9-39.4°C	>39.4°C
Öksürük	Yok	Zorlama durumunda	Zorlama durumunda veya kendiliğinden ortaya çıkan	Tekrarlayan Spontan öksürükler
Burun Akıntısı	Normal, seröz akıntı	Az miktarda tek taraflı, bulanık akıntı	Bilateral, bulanık veya aşırı mukus	Çok miktarda, bilateral mukopürülan burun akıntısı
Göz ve Kulak	Normal göz ve kulak	Hafif oküler akıntı veya kulak çırpma	Orta derecede bilateral oküler akıntı veya hafif tek taraflı kulak sarkması	Ağır oküler akıntı, şiddetli kafa eğimi veya bilateral kulak sarkması

Kaynak: McGuirk, 2014

4. Mobilite Skorlaması

Büyük işletmelerde süt ineklerinde topallık görülme sıklığı yüksek olmakla birlikte, bazı ülkelerde % 21'den % 36'ya kadar değişen bir dağılımı olduğu bildirilmektedir. Topal inekler acı çekmekte ve refah bakımından problem yaşamaktadır. Topallık süt veriminde azalmaya neden olmakta ve düşük süt verimi tedaviden önce ve sonra devam etmekle birlikte, lezyon tipine göre değişkenlik göstermektedir. Çoğu sığır yetiştiricisi, çiftliklerinde topallık prevalansını hafife almakta ve çoğu hayvan bakıcısının topallığı tespit etmenin mantıklı bir yolu olmadığını düşünmektedir.(36-41)

Hareketlilik (Mobilite) skorlaması, yetiştiricilerin topallığın tespitini geliştirmelerine yardımcı olmak ve sürü sağlık programının bir parçası olarak tedavi ve hastalıkları önlemeyi teşvik etmek için geliştirilmiştir. Bu sistem birçok araştırmacı ve veteriner hekim tarafından kullanılmaktadır, ancak tekrarlana

birlik açısından değerlendirilmemiştir. Bazı araştırmacılar günlük aktivite düzeylerinin hareket kabiliyetinin azaldığı ineklerde daha düşük olduğunu bildirmiştir. Mobilite skorlaması total olmayan sığırları tanımlamak için kullanıldığında ve tedavi edilmişlerse, topallık ve süt kaybı süresi azaltılabilir. Mobilite Skorlaması Tablo 5 'deki şekilde yapılmaktadır.(42,43,44)

Tablo 5: Mobilite Skorlamasının Tanımları

Mobilite Skoru	Tanım	Mobilite Skoru Tanımı
0	İyi mobilite	Düz bir sırt ile 4 ayağın hepsinde ağırlık taşıma ve ritim ile yürür. Uzun akıcı adımlar mümkündür.
1	Kusurlu hareketlilik	Düzensiz veya kısa tutulan adımlar. Etkilenen uzuvlar hemen tanımlanamaz.
2	Engelli hareketlilik	Ekstremitte üzerinde düzensiz ağırlık taşıma hemen tanımlanabilir veya belirgin kısaltılmış adımlar dikkati çeker. Genellikle geriye doğru gergin duruş görülür.
3	Ağır hasarlı hareketlilik	Sağlıklı sürüye ayak uyduramama ve skor 2 belirtileri.

5. Hijyen Skorlaması

İneklerin gelişigüzel gözlemlenmesi, özellikle hayvanlar uzanırken, bir sürünün temizlik durumu hakkında oldukça yanıltıcı bilgi verebilir. İneklerin gerçek temizlik durumlarını ortaya çıkarmak için yakın gözlem ve hayvanlar arasında yürüyüş yapmak gerekmektedir. Bu sürece yardımcı olmak için, araştırmacılar tarafından ineklerin temizliğine sayısal bir değer veren bir puanlama sistemi geliştirilmiştir.

Süt ineklerinin temizliğini puanlamak için çeşitli sistemler geliştirilmiştir ve bu puanlama sistemleriyle elde edilen puanların süt sığırcılığı yönetimi ve üretiminin çeşitli yönleriyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Süt sığırlarında 1994 yılında yapılan bir çalışma ile 5 alanın (kuyruk kökü, uyluğun lateral yönü, karın ventral yönü, meme ucu ve arka bacakların alt kısmı) temizliğini puanlayan bir sistem geliştirilmiştir. Daha sonraki yıllara yapılan çalışmalar ile inek hijyenini skorlamak için benzer sistem kullanılmış ve laktasyonun erken evrelerindeki ineklerde, uylukların ve arka bacakların temizliği ile fekal kıvamın temizliği arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu ve bununla laktasyonu etkilediği ortaya konulmuştur.

Bir ineğin derisinin temizliği, inek konforunun önemli bir göstergesidir. Genel olarak, seçim yapıldığında, inekler temiz ve kuru alanlarda yatmayı seçecektir ve bir ineğin derisindeki kirin çeşitli nedenleri olabilir. Aşırı kuru kir tabakaları ektoparazitler için uygun koşulları sağlar ve deriyi tahriş edebilir, soğuk stresi ve hastalık riskini artırabilir, kesim öncesi sorunlara neden olabilir. Kurumuş kirin katmanlanması, uzun vadeli bir birikime işaret eder ve barınakların temizlik rutinindeki zayıflıkları veya bakım faaliyetlerinin eksikliğini ortaya çıkaran önemli bulgular olarak dikkati çekmektedir. Bacaklarda ve göğsün üstündeki yüksek kirlilik seviyesi, topallık, dijital dermatit, interdigital dermatit, mastitis riskinin habercisi olarak dikkat çekmektedir. Bununla birlikte bu kir ve dışkı katmanları, deri hasarını ve ayak lezyonlarını erken teşhis etmeyi engelleyerek, iyileşme sürelerini geciktirmektedir. Hijyen Skorlama örneği aşağıdaki gibi yapılabilmektedir.(45,46,47)

- **Kuyruk başı:** Kuyruk başı ile vulva tabanı arasında kalan dairesel alan
- **Arka bacağın üst kısmı:** Vulva tabanından eklem noktasına kadar uzanan alan (her iki bacak için)
- **Abdomenin ventrali:** Meme önünden başlayan sternuma kadar uzanan alan
- **Meme bölgesi:** Ön ve arka meme bölgesi ile meme tabanı ve meme uçlarını kapsar
- **Alt arka bacak:** Eklem dahil olmak üzere tabana kadar uzanan alan
- Kir yok veya çok az miktarda taze veya kuru sıçramalar **(0/Temiz)**
- En az avuç içi büyüklüğünde (10*15cm) bir kirlilik alanı / taze veya kuru kir tabakası **(1/Kirli)**
- Yaklaşık 40cm e ulaşan kirlilik alanı / kurumuş kir tabakası ve plakları **(2/Çok kirli)**

6. Kıl Dökülmesi ve Eklem Lezyonu Skorlaması

Eklem lezyonları dünya genelinde sığır işletmelerinde yaygın olarak görülen bir problemdir. En önemlisi, eklem lezyonlarının prevalansı ve şiddeti ile sürünün içindeki topallık düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar olduğu geçmiş yıllarda yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Bununla birlikte sığırlarda topallığın, yaralanmalardan kaynaklı lezyonların yanı sıra olumsuz sağlık koşulları ile de bağlantılı olduğu yine yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur.(48-51)

Eklem lezyonları ile ilişkili bilgi birikimine rağmen, sığırlarda topallık ve eklem lezyonları için skorlama sistemleri henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır. Günümüzde eklem lezyonu terimi, tahrip olmuş ve dökülmüş kıllar, aşınmış veya yıpranmış deri, kabuklar ve şişlik gibi çeşitli bulguları tanımlamak için kullanılmaktadır. Eklem lezyonları için skorlama yönteminde lezyonları tanımlamaktan ziyade, kıl dökülmesi, yaralar/kabuklar ve çoğu zaman en şiddetli temsillerden biri olarak şişlik gibi bulguların değerlendirilmesi ile yapılmaktadır. Lezyon şiddetinin ve dolayısıyla biyolojik önemin öznel değerlendirmeleri yapılmaktadır, hem yaralar hem de şişlikler genellikle tek başına kıl dökülmesi alanlarından daha şiddetli olarak kabul edilmektedir. Birçok araştırmacı halen, eklem lezyonlarını değerlendiren bazı çalışmalar yapmış olmasına rağmen büyük ölçekli ve tam kapsamlı bir skorlama için çalışmalar halen yetersizdir.(48,52-54)

Yapılan çalışmaların çoğunda, genel lezyon görüntüsüne veya lezyon şiddetinin öznel bir değerlendirmesine göre lezyon, alan veya ekstremiteye tek bir puan verilerek yapılmaktadır. Sonuç olarak, eklem lezyonları ile ilişkili risk faktörleri bir lezyonun varlığına karşı analiz edilmiştir. Eklem lezyonları için çoklu skorlama sistemleri kullanılmaktadır. Örneğin, Cornell Üniversitesi sisteminde yapılan bir çalışmada (1) şişlik, kıl dökülmesi ve pürüzsüz bir kat olmadan normal, sağlıklı bir eklem arasında bir ayırım yapılır; 2) şişme olmaksızın kıl dökülmesi ve (3) belirgin veya ülserasyonlu mevcut şişme değerlendirmesi şeklinde yapılmaktadır. Sürü başına en az 20 inekte alınan puanların değerlendirilmesi ve her sunumun yüzdesinin hesaplanması önerilmektedir. Bu skorlama tekniği, barınak tasarımındaki veya yönetimindeki değişikliklere olan ihtiyacı değerlendirmek ve daha sonra değişikliklerin etkisini değerlendirmek için tekrar tekrar kullanılabilir.(55)

➤ **Tarsal Eklem Skorlaması:**

➤ **0:** Eklemde şişme yok, Kıl dökülmesi, kıllarda incelleme veya matlaşma yok

➤ **1:** Eklemde şişlik yok ya da çok az (<1cm), Eklem üzerinde kıl dökülmesi

➤ **2:**Orta dereceli şişlik(1 – 1,25 cm) kıl dökülmesi ve/veya lezyon

➤ **3:**Büyük oranda şişlik(>2,5cm), kıl dökülmesi ve şişlik görülebilir.

➤ **Karpal Eklem Skorlaması:**

➤ **0:**Deride değişim yok

➤ **1:**Kılsız alanlar

- **2:**Orta şişlikte veya şişmemiş lezyon / kabuk (<2,5 cm) Kılısız alanlar olabilir
 - **3:**Büyük Oranda şişlik (>2,5cm) lezyon olabilir, bariz kıl dökülmesi
 - **Boyun Bölgesi Skorlaması:**
 - **0:**Şişme yok. Bariz kıl dökülmesi yok. Bazı kıllar kırılmış veya dökülmüş olabilir
 - **1:**Belirgin şişlik yok. Dökülmüş alanlar görülebilir
 - **2:**Bozulmuş deri, kabuklu alan veya şişlik. Dökülmüş alanlar çok belirgin
- Kıl dökülmelerindeki potansiyel risk faktörleri tablo 7 de gösterilmiştir.

Tablo 6: Kıl dökülmelerindeki potansiyel risk faktörleri

İneklere Bağlı Risk Faktörleri	
Kategoriler	Açıklamalar
İnek Özellikleri	VKS, lokomasyon skoru, temizlik skoru, doğum sayısı, yaş, cins
Süt Verimi	Laktasyondaki günler, en son kaydedilen süt verimi, önceki laktasyonel 305 günlük verim, en son üç aylık süt kayıtlarından ortalama süt verimi
İneklerin Davranışları	Yatış ve kalkış hareketleri
Çiftliğe Bağlı Risk Faktörleri	
Çevresel değerlendirmeleri	Besleme alanı, geçiş yolları, mafsal alanları, zemin tipi, yatak malzemeleri, padok tipi, altlık malzemesi derinliğinin ölçümü ve durum kayıtları.
Durak ölçümleri	Toplam uzunluk, bordür ile briket pozisyon yerine olan mesafe, herhangi bir minder veya şilte uzunluğu, boyun askısının yüksekliği, arkadaki alt yan rayın yüksekliği (yatağın arkasından 40 cm) alt ve üst yan raylar arasındaki mesafe
Padok Özellikleri	Kırık kenarları, boyun rayları, yanlış yerleştirilmiş paspaslar ve şilteler, paralel olmayan yan raylar, sadece bir tarafta mevcut yan dalma alanı, doğrudan duvara bakan öne doğru düşme veya sallanma alanını kesen bölmelerin oranı.
Yönetim Uygulamaları	Hijyen ürünleri ile ilgili değişkenler, sürü büyüklüğü, stoklama oranı, kışın kapalı alanda kalma günleri, yatak malzemesi ve yenileme sıklığı.

Yaralanma önlemleri, hem sürünün hem de bireyin refah durumunun bir kısmını yansıtan farklı çiftlik sistemlerinde (örn. Ahır, serbest durak ve otomatik sağım sistemleri) tutulan süt sığırlarının refahını karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Süt ineklerinde tarsal eklem (hock), karpal eklem ve boyun yaralanması, durak ve yem ranzası tasarımının kötü yönetiminin önemli göstergeleri olarak kabul edilmektedir. Tarsal eklem yaralanmaları geleneksel sistemlerde, organik sistemlere göre, bağlı sistemlerde serbest sistemlere göre, kumlu tezgâhlarda, minderlere sahip çiftliklere göre kısıtlı hareket alanı olan alanlarda serbest tezgahları olan çiftliklere göre daha yaygın olarak görülmektedir. Ek olarak, tarsal eklem yaralanması artan topallık ile ilişkilidir. Karpal eklem lezyonları, inekler de beton bazlı tezgahlara kıyasla kauçuk paspaslar veya şilteler üzerinde tutulduğunda daha az yaygındır ayrıca kısıtlanmış hareket alanı olan tezgahları içeren çiftliklerde daha yaygındır. Genellikle yataklı duraklarda inekler daha az yaralanmaya sahiptir.

Bu skorumun faydalarını; inekler de barınak kaynaklı olası yaralanma nedenlerini bulmak için sorun giderme aracı olarak, hayvanların rahatlığını ve dolayısıyla genel sürü sağlığını, performansını artırması, çiftlik çalışanlarını motive etmesi ve hayvan refahını artırması olarak sayabiliriz.

Kaynaklar

1. Mulvany PM. Dairy cow condition scoring. p. 349 in Occas. Publ. No. 4. Br. Soc. Anim. Prod., Edinburgh, UK; 1981.
2. Özcan K. Damızlık ineklerin dış görünüş özelliklerine göre değerlendirilmesi. *Türk Holstein Friesian Yetiştiricileri Dergisi* 1995; 1:7-9.
3. Bewley JM, Pas T, Schutz MM. An Interdisciplinary Review of Body Condition Scoring for Dairy Cattle. *Prof Anim Sci* 2008; 24: 507–529.
4. Jefferies BC. Body condition scoring and its use in management. Tasman. *J Agric* 1961; 32:19.
5. Lowman BG, Scott NA, Somerville SH. Condition scoring of cattle. East of Scotland Coll. of Agric., Edinburgh, UK; 1976.
6. Earle DF. A guide to scoring dairy cow condition. *J Agric* 1976; 74:228.
7. Mulvany PM. A body condition scoring technique for use with British Friesian Cows. *Anim. Prod* 1977; 24:157-158.
8. Wildman EE, Jones GM, Wagner PE, Boman RL. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J Dairy Sci* 1982; 65:495.

9. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 1989; 72:68.
10. Ferguson JD. Body condition scoring. p. 56 in Proc. Mid-South Ruminant Nutr. Conf., Arlington, TX, 2002.
11. Ferguson JO, Galligan DT, Thomsen N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1994; 77:2695.
12. Schwager-Suter R, Stricker C, Erdin D, Kunzi N. Relationship between body condition scores and ultrasound measurements of subcutaneous fat and musculus longissimus dorsi in dairy cows differing in size and type. *Anim Sci* 2000; 71:465.
13. Kristensen E, Dueholm L, Vink D, ve ark. Within- and across-person uniformity of body condition scoring in Danish Holstein cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89:3721.
14. Gregory NG, Robins JK, Thomas DG, Purchas RW. Relationship between body condition score and body composition in dairy cows. *N. Z. J. Agric Res* 1998; 41:527.
15. Roche JR, Dillon PG, Stockdale CR, Baumgard LH, VanBaale MJ. Relationships among international body condition scoring systems. *J Dairy Sci* 2004; 87:3076.
16. Oetzel GR. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2004; 20:651.
17. Waltner SS, McNamara JP, Hillers JK. Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci* 1993; 76:3410.
18. Treacher RJ, Reid IM, Roberts CJ. Effect of body condition at calving on the health and performance of dairy cows. *Anim Prod* 1986; 43:1.
19. Broster WH, Broster VJ. Body score of dairy cows. *J Dairy Res* 1998; 65:155.
20. Duffield T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000; 16:231.
21. Busato A, Faissler D, Kupfer U, Blum JW. Body condition scores in dairy cows: Associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. *J Vet Med A* 2002; 49:455.
22. Lacetera N, Scalia D, Bernabucci U, Ronchi B, Pirazzi D, Nardone A. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *J Dairy Sci* 2005; 88:2010.

23. Markusfeld O, Galon N, Ezra E. Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. *Vet Rec* 1997; 141:67.

24. Rasmussen LK, Nielsen BL, Pryce JE, Mottram TT, Veerkamp RF. Risk factors associated with the incidence of ketosis in dairy cows. *Anim Sci* 1999; 68:379.

25. Butler WR, Smith RD. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1989; 72:767.

26. Kim IH, Suh GH. Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 2003; 60:1445.

27. Contreras LL, Ryan CM, Overton TR. Effects of dry cow grouping strategy and prepartum body condition score on performance and health of transition dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87:517.

28. Gearhart MA, Curtis CR, Erb HN, ve ark. Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J Dairy Sci* 1990; 73:3132.

29. Hoedemaker M, Prange D, Gundelach Y. Body condition change ante and postpartum, health and reproductive performance in German Holstein cows. *Reprod Domest Anim* 2008; 44(2): 167-173.

30. Heuer C, Schukken YH, Dobbelaar P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 1999; 82:295.

31. Opsomer G, Grohn YT, Hertl J, ve ark. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. *Theriogenology* 2000; 53:841.

32. Berry DP, Lee JM, Macdonald KA, ve ark. Associations among body condition score, body weight, somatic cell count, and clinical mastitis in seasonally calving dairy cattle. *J Dairy Sci* 2007c; 90:637.

33. Dyk PB. The association of prepartum non-esterified fatty acids and body condition with peripartum health problems of 95 Michigan dairy farms. MS Thesis. Michigan State Univ., East Lansing; 1995.

34. Cameron RE, Dyk PB, Herdt TH, ve ark. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *J Dairy Sci* 1998; 81:132.

35. Mcguirk SM, Peek SF. Timely diagnosis of dairy calf respiratory disease using a standardized scoring system. *Anim Health Res Rev* 2014; 15(2): 145–147.

36. Clarkson MJ, Downham DY, Faull WB, ve ark. Incidence and prevalence of lameness in dairy cattle. *Vet Rec* 1996; 138:563–567.

37. Leach KA, Whay HR, Maggs CM, ve ark. Working towards a reduction in cattle lameness: 1. Understanding barriers to lameness control on dairy farms. *Res Vet Sci* 2010; 89:311–317.

38. Archer SC, Green MJ, Huxley JN. Association between milk yield and serial locomotion score assessments in UK dairy cows. *J Dairy Sci* 2010; 93:4045–4053.

39. Amory JR, Barker ZE, Wright JL, ve ark. Associations between sole ulcer, white line disease and digital dermatitis and the milk of 1824 dairy cows on 30 dairy cow farms in England and Wales. *Prev Vet Med* 2008; 83:381–391.

40. Green LE, Hedges VJ, Schukken YH, Blowey RW, Packington AJ. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *J Dairy Sci* 2002; 85:2250–2256.

41. Bicalho RC, Warnick LD, Guard CL. Strategies to analyze milk losses caused by diseases with potential incidence throughout the lactation: A lameness example. *J Dairy Sci* 2008; 91:2653–2661.

42. Whay HR, Waterman AE, Webster AJ. Associations between locomotion, claw lesions and nociceptive threshold in dairy heifers during the peri-partum period. *Vet J* 1997; 154:155–161.

43. O’Callaghan KA, Cripps PJ, Downham DY, Murray RD. Subjective and objective assessment of pain and discomfort due to lameness in dairy cattle. *Anim Welf* 2003; 12:605–610.

44. Mazrier H, Tal S, Aizinbud E, Bargai U. A field investigation of the use of the pedometer for the early detection of lameness in cattle. *Can Vet J* 2006; 47:883–886.

45. Hughes JW. A system of assessing cow cleanliness. *In Pract* 2001; 23:517–524.

46. Chiappini U, Zappavigna P, Rossi P, ve ark. Straw flow litter for dairy cows: experimental tests with different slopes and different quantities of straw, in Proceedings. 3rd *Int Dairy Housing Conf* 1994; 138–144.

47. Reneau JK, Seykora AJ, Heins BJ ve ark. Association between hygiene scores and somatic cell scores in dairy cattle. *JAVMA* 2005; 227(8): 1297-1301.

48. Rutherford KMD, Langford FM, Jack MC, ve ark. Hock injury prevalence and associated risk factors on organic and nonorganic dairy farms in the United Kingdom. *J Dairy Sci* 2008; 91:2265–2274.

49. Kielland C, Ruud LE, Zanella AJ, Østerås O. Prevalence and risk factors for skin lesions on legs of dairy cattle housed in freestalls in Norway. *J Dairy Sci* 2009; 92:5487–5496.
50. Fulwider WK, Grandin T, Garrick DJ, ve ark. Influence of free-stall base on tarsal joint lesions and hygiene in dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90:3559–3566.
51. Haskell MJ, Rennie LJ, Bowell VA, Bell MJ, Lawrence AB. Housing system, milk production, and zero-grazing effects on lameness and leg injury in dairy cows. *J Dairy Sci* 2006; 89:4259–4266.
52. Weary DM, Tazskun I. Hock lesions and free-stall design. *J Dairy Sci* 2000; 83:697–702.
53. Norring M, Manninen E, de Passillé AM, ve ark. Effects of sand and straw bedding on the lying behavior, cleanliness, and hoof and hock injuries of dairy cows. *J Dairy Sci* 2008; 91:570–576.
54. Livesey CT, Marsh C, Metcalf JA, Laven RA. Hock injuries in cattle kept in straw yards or cubicles with rubber mats or mattresses. *Vet Rec* 2002; 150:677–679.
55. Kester E, Holzhauer M, Frankena K. A descriptive review of the prevalence and risk factors of hock lesions in dairy cows. *J Vet Med* 2014; 202(2): 222-228.

BÖLÜM XI

KEDİLERDE HİPERTROFİK KARDİYOMİYOPATİ

Hypertrophic Cardiomyopathy in Cats

Durmuş Fatih BAŞER¹ & Nurdan Yaren ARIBURNU²

¹Dr. Öğr. Üyesi), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: dfbaser@aku.edu.tr

ORCID: 0000-0003-4272-9011

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

e-mail: yarenariburnu@gmail.com

ORCID: 0000-0002-6136-3687

1. Giriş

Hipertrofik kardiyomyopati (HCM), kedilerde en yaygın görülen kalp hastalığıdır. Her yaştan kedi etkilenebilir ancak sıklıkla orta yaşlı kedilerde ortaya çıkar. American College of Veterinary Internal Medicine'a (ACVIM) göre kardiyomyopatiler, miyokardiyal anormalliğe neden olan başka herhangi bir kardiyovasküler hastalık olmaksızın, kalp kasında yapısal ve işlevsel anormalliğin olduğu bir miyokardiyal bozukluk olarak tanımlanır. Hipertrofik kardiyomyopatinin fenotipik tanımı ise, sol ventrikülde diffuz ya da bölgesel duvar kalınlığı ile dilate olmayan sol ventrikül şeklinde yapılıdır.(1)

2. Patofizyoloji

Sol ventrikül duvarı ya da interventriküler septumda kalınlaşma olabilir. Sol ventrikül kalınlaştığı zaman, miyokardiyal kan tedariki işlevsel bir şekilde

çalışamaz. Bu durum miyozit hasarı ve ölümü ile sonuçlanır. Kardiyak troponin I'da yükselme olur.(2,3) Ölen kardiyomiyozitler, fibröz doku ile yer değiştirir ve tip 1 kollajen artışı meydana gelir.(4) Sistolik miyokardiyal duvar gerilimindeki azalma nedeniyle, kalınlaşan fibröz miyokardiyum sistolde normal olarak kontrakte olurken diyastolde normal gevşemez. Bu nedenle HCM'li kedilerde en yaygın görülen fonksiyonel anormallik diyastolik disfonksiyondur. Diyastolde sol ventriküle gelen her kan, diyastolik basıncı artırır.(5) Sol ventrikülde artmış diyastolik basınç, sol atriyumda artan basınca neden olur ve sol atriyumda genişleme ile sonuçlanır. Artan sol atriyum basıncı, pulmoner venöz basıncın da artışına sebep olur ve pulmoner ödeme neden olan artmış pulmoner kapillar basınç, pulmoner venlerin genişlemesi şekillenir.(6) Plörayı drene eden damarlar, pulmoner venlere akar, sol atriyumdaki basınç artışı ve pulmoner venöz basınç artışının plöral efüzyona sebep olduğu varsayılır.(7,8) Bu durum sol kalp yetmezliği olarak tanımlanır.

3. Prevalans

Hipertrofik kardiyomiyopatinin genel kedi popülasyonunda tahmini yaygınlığı yaklaşık %15'tir.(9) Yaşlı kedilerde prevalans çok daha yüksektir ve hipertansiyonu, hipertroidizmi olan kediler hariç tutulsa bile yaşlı kedilerin, %29'a varan oranlarda etkilendiği bildirilmiştir.(10) Konjestif kalp yetmezliği, HCM'li kedilerde klinik belirtilerin en yaygın nedenidir ve ardından arteriyel tromboembolizm (ATE) gelir.(11) Kedilerin küçük bir kısmında ise klinik belirti şekillenmeksizin ani ölüm görülür.(12) Maine Coon, Ragdoll, British Shorthair, Persian, Bengal, Sphynx, Norveç Orman Kedisi ve Birman hastalığa predispoze olduğu bildirilmektedir.(13)

4. Klinik Bulgular

HCM, hafif seyirli olduğu kedilerde, yıllarca asemptomatik seyredebilir. Rutin muayenelerde murmur, aritmi, gallop sesi gözlenen hastalarda yapılan ekokardiyografik değerlendirme sonucunda çok sayıda subklinik HCM hastası kedinin teşhisi konmuştur. Semptomatik kediler, çoğunlukla değişken solunum belirtileri ile ya da tromboembolizmin akut belirtileri ile kliniğe başvurur. Respiratorik belirtiler arasında taşipne, aktivite ile ilişkili solunum güçlüğü ve nadiren öksürük yer alır. Anestezi, cerrahi müdahale, sıvı sağaltımı, sistemik hastalıklar konjestif kalp yetmezliği sürecini hızlandırabilir. Kardiyak aritmilerle

nispeten yaygın karşılaşılr. Distal aortik tromboembolizm olmadıkça femoral nabızlar genellikle HCM'li hastalarda güçlüdür. Belirgin akciğer sesleri, bazen siyanoz pulmoner ödemi işaret eder. Plöral efüzyon ise ventral pulmoner sesleri azaltır.(14)

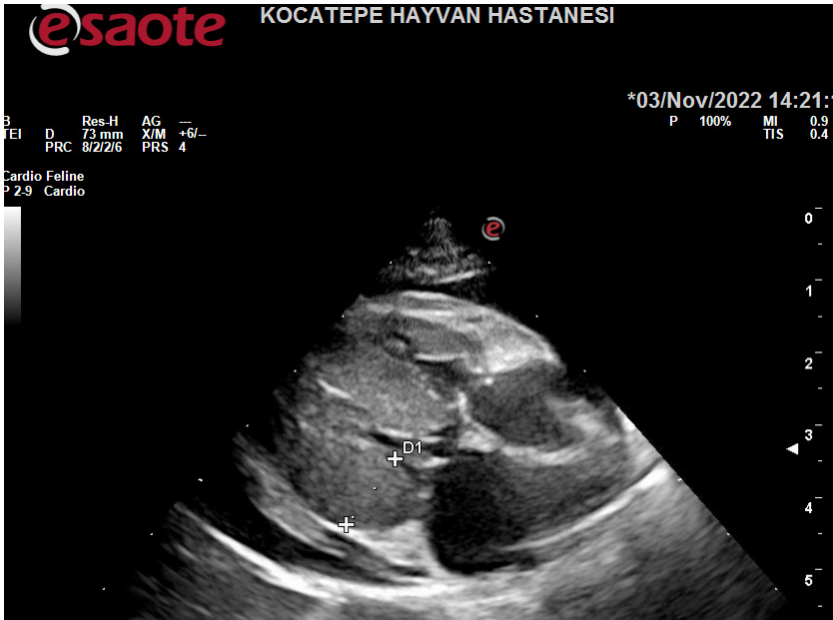
5. Teşhis

HCM'nin kesin tanısı hemen hemen her zaman ekokardiyografi kullanılarak yapılır, ancak sol ventrikül duvar kalınlaşmasına neden olan başka hastalıklar da olduğundan, diğer tanı araçlarından da yararlanır. Elektrokardiyografi (EKG), HCM'li bazı kedilerde değişiklikleri ortaya çıkarabilir, ancak güvenilir bir tanı aracı değildir.(15) Radyografi, HCM'yi diğer kardiyomiyopatilerden ayırt etmek için kullanılamaz, ancak ventrodorsal veya dorsoventral görüntülerde şiddetli sol atriyum genişlemesini belirlemek için, pulmoner ödem ve plöral efüzyonu değerlendirmek için değerlidir.

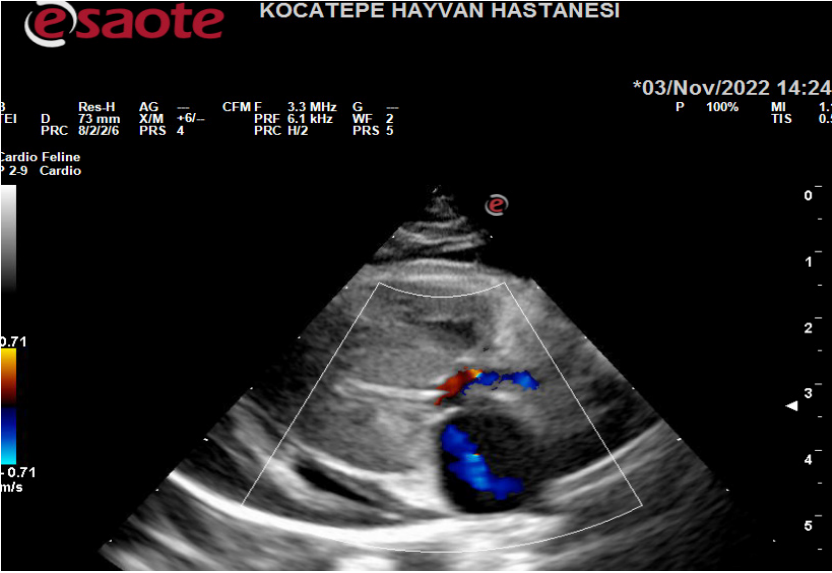
Hipertrofinin boyutu ve ventriküler duvar, septum ve papiller kaslar içindeki dağılımı iki boyutlu (2-D) ve M-mode ekokardiyografi ile tespit edilir. Doppler ekokardiyografi tekniği sol ventrikül diyastolik veya sistolik anormallikleri gösterebilir. Miyokardiyal kalınlaşma yaygındır ve hipertrofi genellikle sol ventrikül duvarı, septum, papillar kaslar lokalizasyonunda asimetrik olarak dağılır. Sağ parasternal uzun eksen görüntülemeye, interventriküler septum ve sol ventrikül dış duvarı kalınlıklarını ölçmek için kullanılır. Dehidrasyon ve bazen taşikardi olgularında yanlış artmış kalınlık ölçümleri yapılabilir (psödohipertrofi). Yanlış diyastolik kalınlık ölçümleri aynı zamanda ışın duvarı septumu dik olarak kesmediğinde ve ölçüm diyastol sonunda alınmadığında, eş zamanlı EKG kaydı yapılmadan veya kullanılırken ortaya çıkabilir. Diyastol sonu sol ventrikül duvar kalınlığının ve septal kalınlığının 5.5 mm'den büyük olması anormal olarak kabul edilmiştir. Papiller kasların ve subendokardiyal alanların ekojenitesinin (parlaklığının) artmasının, fibrozla sonuçlanan kronik miyokardiyal iskemi için bir belirteç olduğu düşünülmektedir. Sol ventrikül fraksiyonel kısalma ise normalden artmışa doğru değişir. Doppler mitral yetersizliği ve sol ventrikül çıkış türbülansını gösterebilir. Sol apikal beş odacık görüntüsü en kullanışlı pozisyon olabilir. PW doppler gecikmiş gevşeme mitral akış paternini diyastolik disfonksiyonu gösterebilir. Sol atriyum genişlemesi hafif ila belirgin olabilir. Konjestif kalp yetmezliği klinik belirtileri olan kedilerde belirgin sol atriyum genişlemesi beklenir. Bazı kedilerin genişlemiş

sol atriyumunda spontan kontrast (dönen, dumanlı akımlar) görülebilir. Bunun hücresel agregasyonlarla kan stazından kaynaklandığı ve tromboemboli habercisi olduğu düşünülmektedir.(16)

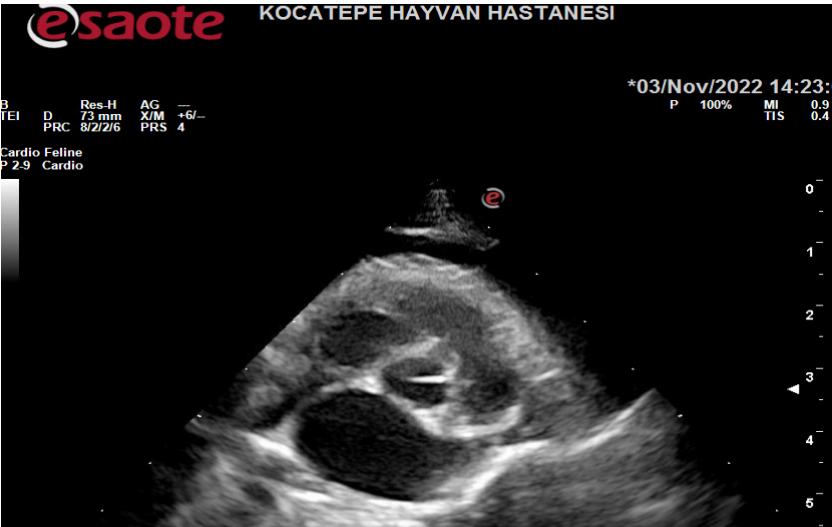
Etkilenen kedilerde, terapötik ve prognostik karar verme için, Amerikan Kalp Birliği (AHA) ve ACVIM, bir evreleme sistemi önermektedir.(17,18) Bu sisteme göre evre A, kardiyomiyopatiye yatkın olan ancak miyokardiyal hastalık kanıtı olmayan kedileri içerir. Evre B, kardiyomiyopati ancak klinik belirtileri olmayan kedileri tanımlar. Evre B ayrıca B1 ve B2 aşamasına ayrılır. B1: olası konjestif kalp yetmezliği veya arteriyel tromboembolizm (ATE) riski düşük olan kediler ve B2 aşaması: konjestif kalp yetmezliği veya ATE riski yüksek olan kediler. Sol atriyal genişleme ne kadar şiddetli olursa, konjestif kalp yetmezliği ve ATE riski de o kadar yüksek olur.(19) Konjestif kalp yetmezliği veya ATE belirtileri geliştiren kediler, klinik belirtiler tedavi ile düzelse bile evre C olarak sınıflandırılır. Tedaviye dirençli konjestif kalp yetmezliği belirtileri olan kediler evre D olarak sınıflandırılır.(20)



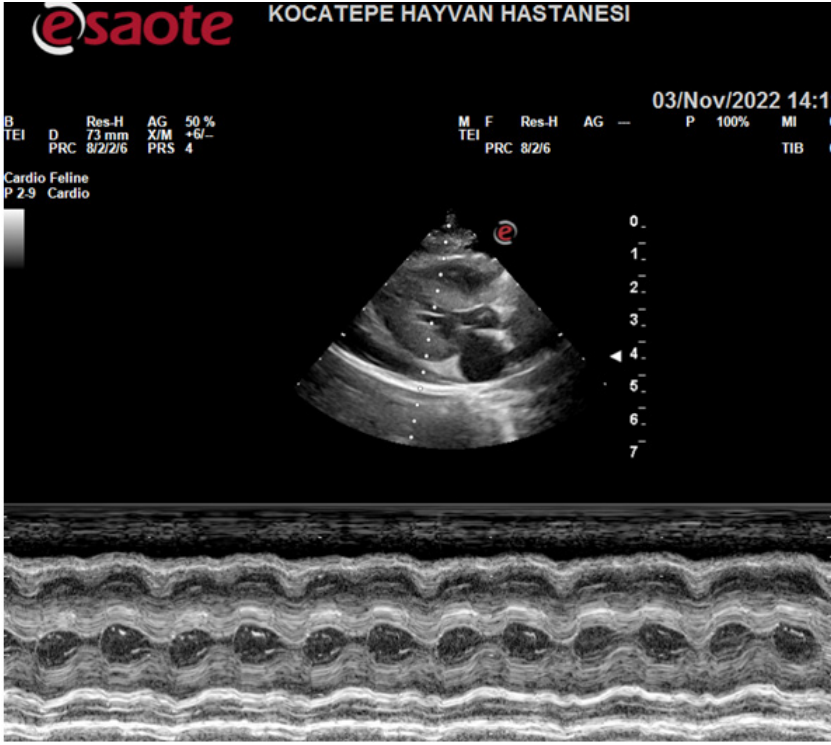
Resim 1: Sağ Parasternal Uzun Eksen Görüntülemesinde Kalınlaşmış Sol Ventrikül Sistolik Dış Duvarı (LVPWs)



Resim 2: Hipertrofik kardiyomiopatisi olan bir kedide sağ parasternal uzun eksen pozisyonunda doppler görüntüsü. Renkli doppler mitral kaçak görüntüsü.



Resim 3: Sağ Parasternal Kısa Eksen Görüntülemeye, Hipertrofik Kardiyomiyopatiye Bağlı Sol Atrial Dilatasyon



Resim 4: Sağ Parasternal Uzun Eksen Görüntülemeye Hipertrofik Kardiyomyopatinin M-mode Görüntüsü

6. Tedavi

Amaç kalp yetmezliği başlangıcını geciktirmekse, hafif ila şiddetli duvar kalınlaşması ve normal ila hafif genişlemiş sol atriyumu (evre B1) olan subklinik HCM'li bir kediyi tedavi etmek için belgelenmiş bir neden yoktur. Bunun nedeni, hastalık ilerliyorsa, hastalığın hipertrofini veya yavaş ilerlemesini sağlayan hiçbir ilacın (ACE inhibitörleri, beta blokerler ve spironolakton dahil) bulunmamasıdır. (21,22) Bu nedenle;

- Kediyi şiddetli sol atriyum büyümesi açısından izlemek,
- İyatrojenik olarak kalp yetmezliğini tetikleyebilecek tedavilerden kaçınmak,
- Kedi seksüel olarak aktifse yavru almamak,
- Sol atriyum genişlemesi orta derecede ise, sol kalp yetmezliği bulgularını izlemek,

- Hasta sahibinin, kedinin uyku solunum hızını (RR; normal <30 nefes/dk) izlemesi ve bir günlük tutması büyük önem taşır.(23,24)

6.1. Antiaritmik Ajanlar

Beta blokerler (örn. atenolol) ve kalsiyum kanal blokerleri (örn. diltiazem) subklinik kedi HCM'sini tedavi etmek için kullanılmıştır. Beta blokerlerin kullanımı kısmen, insanlarda, özellikle SAM'li hastalarda, anjin ve egzersiz dispnesini hafiflettikleri ortaya konmuştur.(25,26) HCM'li kedilerin göğüs ağrısı (anjina) yaşadıklarına dair bir kanıt yoktur ve nadiren egzersiz yaparlar. Bu nedenle, bu konuda tahminde bulunmak zordur. Atenololün kedilerde kardiyak fonksiyon üzerinde etkileri vardır.(27,28) Normal kedilerde 6.25 mg-12.5 mg dozlarında kullanıldığında sistolik ve diyastolik sol ventrikül fonksiyonunu ve sol atriyum sistolik fonksiyonunu azaltır, sistolik kan basıncını düşürmez. Atenolol uygulaması subklinik HCM'li kedilerde plazma NT-proBNP veya cTn I konsantrasyonlarını düşürmez, aktivite seviyesini veya yaşam kalitesini iyileştirir.(22)

6.2. Antiplatelet ve Antikoagulant İlaçlar

Şiddetli sol atriyum genişlemesi olan subklinik HCM'li bir kedi, en yaygın olarak sol kulak kepçesinde (sol atriyum apendiksi) intrakardiyak bir trombüs geliştirme riski altındadır. Bu kedilerde intrakardiyak trombüs oluşumunu önlemeye çalışmak için ilaç kullanılır. Klopidoğrel, tek başına veya rivaroksaban ile kombinasyon halinde, kedi popülasyonunda tekrarlayan sistemik ATE insidansını azalttığı gösterilen tek ilaçtır.(29) Kullanım dozu 18.75 mg/kedi Po q24h olarak bildirilmiştir. Klopidoğrel %100 etkili olmadığından, ATE'yi önlemek için tek başına veya klopidoğrel ile kombinasyon halinde kullanılabilir ilaç araştırmaları devam etmektedir. İnsan tıbbında yaygın bir kombinasyon klopidoğrel ve aspirindir.(30) Bu kombinasyon şu anda bazı veteriner hekimler tarafından ATE için yüksek risk taşıyan kedileri tedavi etmek için kullanılmaktadır. Her ikisi de antiplatelet ilaçlardır, bu nedenle kombinasyonun kedilerde trombosit fonksiyonunu inhibe etmede tek başına klopidoğrelle göre daha etkili olduğu varsayılmaktadır.

Antikoagülanlar, tek başlarına veya klopidoğrel gibi bir antiplatelet ilaçla kombinasyon halinde, resmi olarak incelenmemiştir, ancak tek başına klopidoğrel kadar veya ondan daha etkili olabilir. Bu antikoagülanlar, düşük moleküler ağırlıklı heparinleri içerir. Enoksaparin 0.75–1 mg/kg SC q6–12h ve

rivaroksaban 0.5–1 mg/kg Po q24h. Potansiyel yan etkiler öncelikle kanama komplikasyonları ile ilgilidir.(31)

6.3. Loop Diüretikler

Pulmoner ödemli kedilerin (Evre C), bir loop diüretik ile yani furosemid ya da torasemid ile tedavi edilmesi gerekir. Dispne ve şiddetli taşipne nedeniyle kliniğe getirilen kediler (çoğunun 70'lerde veya 80'lerde bir RR'si olacaktır) tipik olarak ciddi pulmoner ödeme sahiptir ve bu nedenle yüksek dozda parenteral furosemid ile tedavi edilmeleri gerekir. Bu tür ciddi vakalar için başlangıç dozu 3-6 mg/kg, tercihen iV'dir, ancak kateter yerleştirme çok stresli ise iM kullanılabilir.(32) Uygulandıktan sonra kedi, stresi azaltmak için oksijenle zenginleştirilmiş bir ortama yerleştirilmeli ve yalnız bırakılmalıdır. Şiddetli plöral efüzyona bağlı dispne ise torakosentez ile tedavi edilmelidir. Stabil olan veya stabilize edilmiş kedilerin genellikle ömür boyu bir loop diüretigi kullanmaları gerekir. Evcil bir kedi için tipik bir furosemid dozu 1–2 mg/kg Po'dur, q8–12h. Evre D, kalp yetmezliğindeki bir kedi furosemid uygulamasına dirençlidir. Böyle bir kedi parenteral (SC) furosemid (%100 biyoyararlanım) ile tedavi edilebilir veya sindirim sisteminden daha kolay emilen (daha yüksek biyoyararlanım) oral torsemide geçiş yapılabilir. ACE inhibitörleri, özellikle loop diüretikleri ile karşılaştırıldığında nispeten zayıf terapötik ajanlardır. Küçük bir çalışma, spironolaktonun bir loop diüretik ve bir ACE inhibitörü ile kombinasyon halinde kullanımını incelemiş ve sol kalp yetmezliği olan kedilerde güvenli olduğunu öne sürmüştür. Ayrıca ilacın sağ kalımı uzattığı da belirtilmiştir.(33)

6.4. Diyet

Teorik olarak, kalp yetmezliği olan bir kedi için düşük sodyumlu bir diyet faydalı olabilir. Bir çalışma, kontrol diyetine göre nişasta açısından kısıtlı, protein açısından daha yüksek bir diyetin ve dokosaheksaenoik asit ve eikosapentaenoik asit ile desteklenmiş bir diyetin, HCM'li kedilerde sol ventrikül duvar kalınlığında ve cTn I'de marjinal düşümlere yol açtığını öne sürmüştür.(34)

7. Prognoz

HCM için prognoz, hastalığın evresine bağlıdır. Hafif ila orta şiddette HCM'ye sahip birçok kedi şiddetli HCM'ye ilerlemez ve bu nedenle iyi bir

prognoza sahiptir. Şiddetli sol ventrikül duvar kalınlaşması ve orta ila şiddetli sol atriyum büyümesi (evre B2) olan ve kalp yetmezliği olmayan kedilerin çoğu kalp yetmezliğine ilerleyecek veya ATE yaşayacağı düşünülmektedir.(35)

8.Sonuç

Sonuç olarak, ekokardiyografi kullanımının gün geçtikçe yaygınlaşması ile birlikte HCM tanısı alan hasta sayısı artmaktadır. Hastalık her yaş grubu kedide görülebilmektedir. Özellikle hastalığa predispoze ırkların en geç bir yaşından itibaren rutin belirli aralıklarla kardiyolojik muayenelerinin yapılması gerekmektedir. Böylece subklinik hastakların tespit edilerek, özellikle ATE riskinin en aza indirilmesi mümkün olacaktır.

Kaynaklar

1. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on myocardial and pericardial diseases. *Eur Heart J* 2008; 29: 270-276.
2. Connolly dJ, Cannata J, Boswood A, et al. Cardiac troponin I in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Feline Med Surg* 2003; 5: 209–216.
3. Herndon WE, Kittleson Md, Sanderson K, et al. Cardiac troponin I in feline hypertrophic cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 558–564.
4. Borgeat K, dudhia J, Luis Fuentes V, et al. Circulating concentrations of a marker of type I collagen metabolism are associated with hypertrophic cardiomyopathy mutation status in Ragdoll cats. *J Small Anim Pract* 2015; 56: 360–365.
5. Schober KE ve Chetboul V. Echocardiographic evaluation of left ventricular diastolic function in cats: hemodynamic determinants and pattern recognition. *J Vet Cardiol* 2015; 17(1): S102–S133.
6. Patata V, Caivano d, Porciello F, et al. Pulmonary vein to pulmonary artery ratio in healthy and cardiomyopathic cats. *J Vet Cardiol* 2020; 27: 23–33.
7. Kay JM. Comparative morphologic features of the pulmonary vasculature in mammals. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: S53–S57.
8. Moorhead Pd and Cross RF. The subgross vascular anatomy of the feline lung. *Am J Vet Res* 1965; 26: 740–743.
9. Cote E, Manning AM, Emerson D, Laste NJ, Malakoff RL, Harpster NK. Assessment of the prevalence of heart murmurs in overtly healthy cats. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 225:384-388.

10. Wagner T, Fuentes VL, Payne JR, McDermott N, Brodbelt D. Comparison of auscultatory and echocardiographic findings in healthy adult cats. *J Vet Cardiol* 2010; 12:171-182.

11. Payne JR, Brodbelt DC, Luis FV. Cardiomyopathy prevalence in 780 apparently healthy cats in rehoming centres (the CatScan study). *J Vet Cardiol* 2015; 17(1):244-257.

12. Fox PR, Keene BW, Lamb K, et al. International collaborative study to assess cardiovascular risk and evaluate long-term health in cats with preclinical hypertrophic cardiomyopathy and apparently healthy cats: the REVEAL study. *J Vet Intern Med* 2018; 32:930-943.

13. Trehou-Sechi E, Tissier R, Gouni V, et al. Comparative echocardiographic and clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in 5 breeds of cats: a retrospective analysis of 344 cases (2001–2011). *J Vet Intern Med* 2012; 26:532-541.

14. Romito G, Guglielmini C, Mazzarella MO, et al. Diagnostic and prognostic utility of surface electrocardiography in cats with left ventricular hypertrophy. *J Vet Cardiol* 2018; 20: 364–375.

15. Schober KE, Maerz i, Ludewig E, et al. Diagnostic accuracy of electrocardiography and thoracic radiography in the assessment of left atrial size in cats: comparison with transthoracic 2-dimensional echocardiography. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 709–718.

16. Nelson WR., Couto GC., et al. *Small Animal Internal Medicine Fifth Edition* (2014), Elsevier.

17. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 1142-1150.

18. Keene BW, Atkins CE, Bonagura JD, et al. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J Vet Intern Med* 2019; 33: 1127-1140.

19. Payne JR, Borgeat K, Brodbelt DC, ve ark. Risk factors associated with sudden death vs. congestive heart failure or arterial thromboembolism in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2015; 17(1):318-328.

20. Fuentes VL, ve ark. ACVIM consensus statement guidelines for the classification, diagnosis, and management of cardiomyopathies in cats. *J Vet Intern Med* 2020; 10.1111/jvim.15745.

21. Schober KE, Zientek J, Li X, et al. Effect of treatment with atenolol on 5-year survival in cats with preclinical (asymptomatic) hypertrophic cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2013; 15: 93–104.

22. Coleman AE, deFrancesco TC, Griffiths EH, et al. Atenolol in cats with subclinical hypertrophic cardiomyopathy: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial of effect on quality of life, activity, and cardiac biomarkers. *J Vet Cardiol* 2020; 30: 77–91.

23. Ljungvall i, Rishniw M, Porciello F, et al. Sleeping and resting respiratory rates in healthy adult cats and cats with subclinical heart disease. *J Feline Med Surg* 2014; 16: 281–290.

24. Porciello F, Rishniw M, Ljungvall I, et al. Sleeping and resting respiratory rates in dogs and cats with medically-controlled left-sided congestive heart failure. *Vet J* 2016; 207: 164–168.

25. Ommen SR, Mital S, Burke MA, et al. 2020 AHA/ACC guideline for the diagnosis and treatment of patients with hypertrophic cardiomyopathy: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2020; 76: e159–240.

26. Ammirati E, Contri R, Coppini R, et al. Pharmacological treatment of hypertrophic cardiomyopathy: current practice and novel perspectives: pharmacological treatment of HCM. *Eur J Heart Fail* 2016; 18: 1106–1118.

27. Sugimoto K, Aoki T ve Fujii Y. Effects of atenolol on left atrial and left ventricular function in healthy cats and in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Vet Med Sci* 2020; 82: 546–552.

28. Riesen SC, Schober KE, Cervenec RM, et al. Comparison of the effects of ivabradine and atenolol on heart rate and echocardiographic variables of left heart function in healthy cats. *J Vet Intern Med* 2011; 25: 469–476.

29. Hogan dF, Fox PR, Jacob K, et al. Secondary prevention of cardiogenic arterial thromboembolism in the cat: the double-blind, randomized, positive-controlled feline arterial thromboembolism; clopidogrel vs. aspirin trial (FAT CAT). *J Vet Cardiol* 2015; 17(1):306–317.

30. Hogan dF. Feline cardiogenic arterial thromboembolism: prevention and therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017; 47: 1065–1082.

31. Weder C, olver C, Wittenburg L, et al. Multi-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of the commercially available formulation of oral apixavan in cats: a pilot study [abstract]. *ACViM Forum*, 2015. <https://beta.vin.com/members/cms/project/defaultadv1.aspx?id=6790590&pid=11719&>.

32. Ohad dG, Segev Y, Kelmer E, et al. Constant rate infusion vs. intermittent bolus administration of IV furosemide in 100 pets with acute left-sided congestive heart failure: a retrospective study. *Vet J* 2018; 238:70–75.

33. James R, Guillot E, Garelli-Paar C, et al. The SEISICAT study: a pilot study assessing efficacy and safety of spironolactone in cats with congestive heart failure secondary to cardiomyopathy. *J Vet Cardiol* 2018; 20: 1–12.

34. van Hoek i, Hodgkiss-Geere H, Bode EF, et al. Association of diet with left ventricular wall thickness, troponin I and IGF-1 in cats with subclinical hypertrophic cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* 2020; 34: 2197–2210.

35. Kittleson MD, Côté E. The Feline Cardiomyopathies 2. Hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2021; 23, 1028–1051.