

Köpeklerin Karaciğer Toksikasyonlarında Akut Faz Proteinleri (Haptoglobin, Serüloplazmin ve Fibrinojen) ve Lipid Peroksidasyonun (Malondialdehit ve Redükte Glutatyon) Tanısal Önemi

Mehmet KARACA

Yakup AKGÜL

Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada; köpeklerin deneysel akut ve kronik karaciğer toksikasyonlarında akut faz proteinleri ile lipid peroksidasyonun tanıdaki önemi araştırıldı. Çalışmanın materyalini sağlıklı 20 adet sokak köpeği oluşturdu. Bu köpeklerden 10 tanesinde akut toksikasyon (CCl₄, tek doz, 1.5 ml/kg, orogastrik sondayla uygulandı), geriye kalan 10 köpekte kronik toksikasyon (CCl₄, 5 ay süreyle, haftada iki kez, 0.5 ml/kg, orogastrik sondayla uygulandı) oluşturuldu. Denemeye alınan akut toksikasyon grubu köpeklerden uygulama öncesi bir kez, uygulamadan sonraki 6., 12., 24., 48., 72., 96., 120. ve 144. saatlerde olmak üzere toplam 8 kez hematolojik ve biyokimyasal analizler için kan örnekleri alındı. Kronik toksikasyon oluşturulan köpeklerde denemeden önce bir kez, denemenin başlamasından sonraki her ayda bir kez olmak üzere toplam 5 kez hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin analizi için kan örnekleri alındı. Akut toksikasyon oluşturulan köpeklerde deneme öncesi ve sonrası saptanan haptoglobin, serüloplazmin, fibrinojen, redükte glutatyon, malondialdehit, ALT ve AST değerleri arasında meydana gelen farkın istatistiki bakımdan önemli olduğu belirlenmiştir. Ancak bu grup köpeklerde incelenen diğer parametreler (lökosit, eritrosit, hemoglobin, hematokrit, trombosit, total protein ve albumin) arasındaki farkın önemli olmadığı görülmüştür. Kronik toksikasyon oluşturulan köpeklerde ise deneme öncesi ve sırasında belirlenen haptoglobin, serüloplazmin, fibrinojen, redükte glutatyon ve malondialdehit değerleri arasında $p < 0.05$ güven eşiğinde önemli bir farkın olduğu saptanmıştır. Yine aynı grup hayvanlarda deneme öncesi ve sonrası belirlenen ALT, AST, total protein ve albumin değerleri arasında istatistiki açıdan önemli bir farkın olduğu gözlenmiştir. Ancak, bu gruptaki köpeklerde incelenen hematolojik parametreler içerisinde total lökosit sayıları dışında kalan değerleri (eritrosit, hemoglobin, hematokrit, trombosit) istatistiki yönden önemli sayılabilecek bir farkın şekillenmediği ($p > 0.05$) tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile köpeklerde deneysel olarak oluşturulan akut ve kronik karaciğer toksikasyonlarında belirlenen akut faz proteinleri ile lipid peroksidasyonun akut ve kronik karaciğer hasarının tanısında önemli bir kriter olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Köpek, karaciğer toksikasyonu, Karbontetraklorür (CCl₄), Akut faz proteinleri, Lipid peroksidasyonu

Aynı isimli doktora tezinin özetidir.

The Diagnostic Importance of Acute Phase Proteins (Haptoglobin, Ceruloplasmin and Fibrinogen) and Lipid Peroxidation (Malondialdehyde and Reducte Glutathione) in Liver Intoxication in Dogs

Abstract: In the present study, the importance of acute phase proteins and lipid peroxidation was investigated in diagnosis and prognosis in experimental liver intoxication in dogs. Twenty street dogs were used as material. The dogs were divided into two groups of ten. Dogs in Group 1 were used for acute intoxication and dogs in Group 2 for chronic intoxication. Dogs in acute intoxication group received 1,5 ml/kg CCl₄ only once and dogs in chronic group 0,5 ml / kg for five months (twice a week). In this study, once before intoxication, in acute group; 6, 12, 24, 48, 72 , 96, 120 and 144th hours after intoxication, in chronic group; once a month for five months, haematological and biochemical analysis were made. In investigated biochemical parameters; haptoglobin, fibrinogen, reducte glutathione, MDA, ALT and AST increased significantly ($p<0.05$) compared to the values obtained before intoxication in acute intoxication group. However other parameters examined (WBC, RBC, Hb, HTC, Thrombocyt) were not significantly different ($p>0.05$). In chronic intoxication group, before and during experiment haptoglobin, ceruloplasmin, fibrinogen, reducte glutathione and MDA values changed significantly ($p<0.05$). Furthermore, other parameters (ALT, AST, total protein and albumin) were significantly changed ($p<0.05$). Among haematological parameters, only total leucocytes changed significantly ($p<0.05$). As a result, acute phase proteins (haptoglobin, ceruloplasmin and fibrinogen) and lipid peroxidation (reducte glutathione and MDA) findings can be used as an important criteria in the diagnosis of acute and chronic liver damages.

Key Words : Dog, Liver intoxication, CCl₄ , Acute phase proteins, Lipid peroxidation.

GİRİŞ

Karaciğer, çok değişik fonksiyonlara sahip kompleks bir organdır. Sindirim sistemi ile kan arasında bir köprü işlevi görür. Vücudun en büyük bezi olarak kabul edilen karaciğer, son derece karmaşık ve önemli fonksiyonları ile karakteristik bir yapı gösterir. Bu fonksiyonlar; sekresyon, ekskresyon, depo, fagositoz, detoksifikasyon, konjugasyon, esterleştirme, metabolizma ve hemopoez şeklinde sıralanabilir. (1, 2). Karaciğer, genellikle transferrin, serüloplazmin, haptoglobin ve lipid transportu için apoproteinler gibi spesifik bağlayıcı proteinlerin sentezinde de primer rol üstlenir. Alfa-1-antitripsin, C-reaktif protein gibi diğer proteinler de karaciğerde sentez edilmektedir. Glikojenin kana verilmesi, yağlar ve proteinlerden glikoz sentezlenmesi (glikoneogenesis), kolesterol sentezi, amino asitlerden protein sentezi, nükleoproteinlerin sentezi, antikor oluşumu gibi fonksiyonlar da karaciğer tarafından yapılmaktadır (3-7).

Hücre ve dokuların tahribi, yangı, enfeksiyon ve hatta gebelik gibi uyarılar sonucu lökositler ve makrofajlar tarafından cevap olarak, vücutta bazı proteinlerin üretiminde bir artış meydana gelir. Plazmadaki konsantrasyonu % 25'ten fazla artan ve çoğu karaciğer orijini olan böyle proteinlere "akut faz reaktanları" veya "akut faz proteinleri" adı verilir. Yangısal enfeksiyonları takiben her bir akut faz proteininin konsantrasyonu değişik ölçüde artar. Yangısal reaksiyonlara bağlı olarak karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezi uyarılır. Bu proteinlerin düzeyi akut yangının ilk dönemlerindeki birkaç saat içinde yükselmeye başlar. Uyarıya bağlı olarak bu proteinlerin kandaki konsantrasyonları hızla yüksek değerlere ulaşır. Meydana gelen artış, hasara uğrayan doku miktarı ile paralellik gösterir (8-11).

İnsanlarda ve hayvanlarda bilinen AFP'leri haptoglobin, serüloplazmin, fibrinojen, C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A (SAA), orosomukoid, 1 asit glikoprotein, 1 antitripsin, 1-makroglobin, komplement ve koagülasyon proteinleridir. Pozitif ve negatif akut faz proteinleri olarak ikiye ayrılan bu proteinler, akut yangının başlamasıyla bir kaç saat içinde değişim gösterirler. Pozitif akut faz proteinleri haptoglobin,

serüloplazmin, fibrinojen, 1 asit glikoprotein, 1 antitripsin ve C-reaktif protein'dir. Negatif akut faz proteinlerinden albumin, prealbumin ve transferrin konsantrasyonlarında, pozitif akut faz proteinlerinin aksine azalma belirlenmektedir (8-10, 12).

Haptoglobin karaciğer paranzim hücreleri tarafından sentezlenir ve serbest olarak kanda bulunur. 1/1 oranında hemoglobini kovalent olmayan sıkı bir kompleks tarzında bağlayarak, serbest hemoglobinin böbreklerden atılmasını engelleyen bir plazma glikoproteinidir. Haptoglobin sentezinde sitokinler, interlökin 1, interlökin 6 ve tümör nekroz faktör önemli mediyatörlerdendir. Haptoglobin, yangı oluşturuca uyarılardan yaklaşık 8 saat sonra artış gösterir. (8, 10). Köpek haptoglobinin molekül ağırlığı 81.000 dalton olup, elektroforez ile hemoglobinli ve hemoglobinsiz ve subünitelerinin varlığı belirlenmiştir (13).

Doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir ve oldukça zararlıdır. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonları şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. (14, 15). Lipid peroksidasyonunun en önemli peroksidasyon ürünü malondialdehidir. Bunun yanında, lipidlerin oksidasyonu sonucu lipid peroksil radikali (ROO), lipid alkoksil radikali, alkil radikali, lipid aldehyd v.b. gibi peroksidasyon ürünleri meydana gelir. (15).

Serbest radikaller pek çok hastalığın patogenezesinde rol oynar. Çoğu hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak bu artışın hastalığın bir sebebimi yoksa sonucu olarak mı meydana geldiği bilinmemektedir. Başlıca endojen antioksidanlar olarak SOD, GSPx, katalaz, antioksidan vitaminler (A, C, E), glutatyon ve serüloplamin sayılabilir (16, 17).

Bu çalışmada köpeklerdeki karaciğer hastalıklarının tanısında akut faz proteinleri ile lipid peroksidasyon ürünlerinin tanındaki önemi araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın materyalini canlı ağırlıkları 13-18 kg arasında değişen 1-3 yaşlarında, farklı cinsiyette 20 adet sağlıklı sokak köpeği oluşturdu. Hayvanlar Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi klinik bokslarında barındırıldı. Köpekler iki gruba ayrıldı. Gruplardan biri akut diğeri ise kronik hepatik nekrozis oluşturma amacıyla kullanıldı.

Boksların dezenfeksiyonundan sonra köpekler bu bölümlere alındı ve yirmi gün süreyle kontrol altında tutuldu. Köpeklerin klinik muayeneleri ve parazitlere karşı ilaç (Mansonil-BAYER ve Dectomax-PFİZER) uygulamaları yapıldı.

Akut toksikasyon ve kronik toksikasyonda da uygulama öncesi ve süresince bu gruptaki köpeklerin günlük takipleri kartotekslere iplendi.

Karaciğer Hasarının Oluşturulması:

Akut karaciğer hasarının oluşturulması amacıyla deneme öncesi hazırlıkları tamamlanan köpeklere 1.5 ml/kg dozunda karbontetraklorür'ün (Merck) zeytinyağındaki (1:1) süspansiyonu 12 saatlik açlığı takiben orogastrik sondayla tek uygulamayla toksikasyon oluşturuldu (18).

Kronik karaciğer toksikasyonu oluşturulan köpeklere her hafta iki kez (pazartesi-perşembe) olmak üzere toplam 22 hafta (5 ay) süreyle canlı ağırlığa 0.5 cc karbontetraklorür-zeytinyağı (1:1) süspansiyonu 12 saatlik açlığı takiben orogastrik sondayla verildi (19).

Akut karaciğer toksikasyon oluşturulan köpeklerde uygulamaya başladıktan sonra 6., 12., 24., 48., 72., 96., 120. ve 144. saatlerde kan örnekleri alındı. Kronik karaciğer toksikasyon oluşturulan grupta ise uygulamaya devam edilen 22 haftalık (5 ay) süre içerisinde ayda bir defa olmak üzere toplam beş kan örneği alındı.

Tam Kan Analiz Miktar Tayini

Tam kan analizleri Coulter MAXM Kan Sayım Cihazı ile Isoton III lyse, Clenz, MAXM PAK ticari kit grubu ile yapıldı.

Biyokimyasal Testler:

Plazmada haptoglobin tayini Batchelor ve ark. (20), serum serüloplazmin tayini modifiye Rawin (21), MDA tayini thiobarbütürik asit reaktivitesi (14), redükte glutatyon tayini Beutler

ve ark.(22)'nin metoduna göre spektrofotometrede çalışıldı.

Serum ALT ve AST enzim aktivite tayinleri Randox ticari kiti, total protein ve albumin konsantrasyonları Diasys ticari kitleri kullanılarak spektrofotometrede, fibrinojen tayini ise Fibrin-Prest 2 ticari kiti kullanılarak Albio ST4 Diagnostica Stago Fibrinojen cihazı ile aynı gün analizleri çalışıldı.

Histopatolojik İncelemeler

Akut toksikasyon grubu köpeklerde denemenin 3. ve 6. gününde, kronik toksikasyon grubu köpeklerde ise denemenin 3., 4., ve 5. aylarında histopatolojik muayene amacıyla her iki gruptaki köpeklerden ultrasonografi rehberliğinde karaciğer biyopsisi alındı. Alınan biyopsi materyali yirmidört saat % 10' luk nötral formalin solüsyonunda tesbit edilerek patoloji laboratuvarına gönderildi. Biyopsi örneklerinden parafin bloklar hazırlanarak 7 m kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilin Eosin (HE) ve Van Gieson ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (23).

İstatistik Analizler

İstatistiksel olarak verilerin incelenmesinde Duncan Testi kullanılarak gerçekleştirildi (24).

BULGULAR

Akut toksikasyon grubu köpeklerde CCl₄ uygulamasından bir gün (24 saat) sonra bütün hayvanlarda durgunluk, halsizlik, iştahsızlık, abdominal palpasyonda duyarlılık gibi semptomlar izlendi. Denemenin sonuna doğru (144. saat) köpeklerde başlangıçta görülen semptomlarda, belirgin düzeyde azalmalar tespit edildi.

Kronik karaciğer hasarı oluşturulan köpeklerde durgunluk, halsizlik, anorexi ve abdominal palpasyonda duyarlılık gibi bulgulara ek olarak sulu defekasyon, kilo kaybı, 1, 6, 9 ve 10 nolu köpeklerde mukoza ve konjunktivalarında ikterus tablosu, idrarda koyulaşma (8. ve 13. haftadan itibaren bütün köpeklerde), dışkı renginde açılma (4. aydan itibaren bütün köpeklerde) ve asites tablosu (6, 7, 8 ve 10 nolu köpeklerde) belirlenmiştir.

Ayrıca kronik karaciğer toksikasyonu oluşturulan deneme grubu köpeklerde yoğun kıl dökülmesi (üç köpekte), dudaklar çevresinde

papüllom oluşumu ve bazı hayvanların konjunktivalarında siyanotik renk görünümü aldığı saptandı..

Hematolojik ve Biyokimyasal Bulgular:

Akut toksikasyon grubu köpeklerde CCl₄ uygulama öncesi ve sonrası hematolojik bulgular Tablo 1.'de, serum ALT, AST, total protein ve albumin düzeyleri Tablo 2.'de, haptoglobin,

serüloplazmin, fibrinojen, redükte glutasyon ve malondialdehit seviyeleri Tablo 3.'de verilmiştir.

Kronik deneme grubu köpeklere ait CCl₄ uygulama öncesi ve sonrası hematolojik bulgular Tablo 4.'de, serum ALT, AST, total protein ve albumin düzeyleri Tablo 5.'de, haptoglobin, serüloplazmin, fibrinojen, redükte glutasyon ve malondialdehit seviyeleri Tablo 6.'da verilmiştir.

Tablo 1. Akut deneme grubu köpeklerde hematolojik parametreler.

ZAMAN	n	Lökosit (x10 ³ /mm ³) X±Sx	Eritrosit (x10 ⁶ /mm ³) X±Sx	Hemoglobin (g/dl) X±Sx	Hematokrit (%) X±Sx	Trombosit (x10 ³ /mm ³) X±Sx
Kontrol	10	9.84±0.28	6.84±0.05	12.64±0.19	37.04±0.23	318.2±5.66
Uygulama Sonrası						
6. Saat	10	9.96±0.06	6.72±0.15	12.52±0.15	37.18±0.11	327.2±8.24
12. Saat	10	10.20±0.14	6.79±0.13	12.54±0.16	37.14±0.22	333.6±8.54
24. Saat	10	10.26±0.08	6.76±0.09	12.26±0.15	37.30±0.10	324.6±4.96
48. Saat	10	10.04±0.09	6.85±0.09	12.46±0.09	37.14±0.09	335.4±6.04
72. Saat	10	9.92±0.05	6.91±0.03	12.40±0.15	37.06±0.05	314.4±6.2
96. Saat	10	10.14±0.26	6.83±0.15	12.32±0.10	37.04±0.10	316.8±4.68
120. Saat	10	9.94±0.17	6.81±0.06	12.50±0.15	37.08±0.19	311.2±13.6
144. Saat	10	9.88±0.05	6.88±0.02	12.76±0.02	37.06±0.06	318.8±7.58

İstatistiki olarak farkın önemi parametrenin kontrol değerine göre tespit edildi. * p<0.05

Tablo 2. Akut deneme grubu köpeklerde uygulama öncesi ve sonrası serum ALT, AST, total protein ve albumin bulguları.

ZAMAN	n	ALT (U/L) X±Sx	AST (U/L) X±Sx	Total Protein (g/dl) X±Sx	Albumin (g/dl) X±Sx
Kontrol	10	36±4.31	53.00±6.61	5.30±0.29	2.84±0.24
Uygulama Sonrası					
6. Saat	10	271.20±9.35*	147.00±3.00*	6.01±0.34	3.03±0.18
12. Saat	10	453.00±7.42*	247.80±4.93*	5.79±0.40	2.88±0.31
24. Saat	10	584.40±3.20*	405.00±9.61*	5.33±0.28	3.01±0.20
48. Saat	10	622.40±7.14*	436.80±7.25*	5.21±0.25	2.84±0.18
72. Saat	10	523.60±10.56*	356.80±4.31*	5.81±0.11	2.64±0.13
96. Saat	10	343.20±9.70*	281.00±7.53*	5.47±0.31	2.84±0.10
120. Saat	10	139.40±9.78*	154.40±4.34*	5.63±0.24	2.58±0.11
144. Saat	10	84.00±3.04*	71.20±4.47*	5.25±0.41	2.27±0.13

İstatistiki olarak farkın önemi parametrenin kontrol değerine göre tespit edildi. * p<0.05

Tablo 3. Akut deneme grubu köpeklerde uygulama öncesi ve sonrası haptogloblin, serüloplazmin, fibrinojen, redükte glutasyon ve malondialdehit bulguları.

ZAMAN	n	Haptogloblin	Serüloplazmin	Fibrinojen	Redükte	Malondialdehit
		(g/L)	(%mg)	(mg/dl)	Glutasyon	(nmol/ml)
		X±Sx	X±Sx	X±Sx	(mg/dl)	X±Sx
Kontrol	10	0.165±0.04	11.10±0.17	274.20±2.28	14.40±0.13	2.22±0.05
Uygulama Sonrası						
6. Saat	10	0.271±0.05	10.98±0.21	327.00±2.66*	13.62±0.11*	2.94±0.04*
12. Saat	10	0.375±0.11	11.06±0.10	328.80±5.49*	12.96±0.22*	3.14±0.07*
24. Saat	10	0.425±0.11*	11.47±0.13	386.60±4.40*	12.74±0.18*	3.58±0.05*
48. Saat	10	0.516±0.07*	11.83±0.22*	420.80±3.89*	12.02±0.10*	3.73±0.04*
72. Saat	10	0.901±0.04*	11.44±0.28	389.80±5.25*	11.47±0.16*	4.11±0.02*
96. Saat	10	0.821±0.05*	11.34±0.10	372.40±4.08*	12.11±0.11*	3.77±0.10*
120. Saat	10	0.750±0.04*	10.92±0.12	361.00±6.35*	13.21±0.24*	3.07±0.05*
144. Saat	10	0.508±0.05*	10.82±0.15	346.80±2.81*	13.95±0.25	2.52±0.12*

İstatistiki olarak farkın önemi parametrenin kontrol değerine göre tespit edildi. * p<0.05

Tablo 4. Kronik deneme grubu köpeklerde hematolojik parametreler.

ZAMAN	N	Lökosit	Eritrosit	Hemoglobin	Hematokrit	Trombosit
		(x10 ³ /mm ³)	(x10 ⁶ /mm ³)	(g/dl)	(%)	(x10 ³ /mm ³)
		X±Sx	X±Sx	X±Sx	X±Sx	X±Sx
Kontrol	10	10.74±0.48	6.73±0.04	12.21±0.08	39.38±0.22	360.00±8.66
Uygulama Sonrası						
1. Ay	10	12.47±0.18*	6.58±0.10	12.12±0.03	40.18±0.27*	368.42±4.09
2. Ay	10	13.46±0.12*	6.84±0.03	12.21±0.05	40.52±0.24*	355.28±10.63
3. Ay	10	13.98±0.14*	6.81±0.07	12.13±0.02	39.08±0.25	369.33±5.72
4. Ay	10	14.00±0.04*	6.85±0.04	12.08±0.04	40.22±0.12*	371.60±9.46
5. Ay	10	14.10±0.05*	6.91±0.03	12.20±0.06	39.20±0.55	360.33±15.49

İstatistiki olarak farkın önemi parametrenin kontrol değerine göre tespit edildi. * p<0.05

Tablo 5. Kronik deneme grubu köpeklerde uygulama öncesi ve sonrası serum ALT, AST, total protein ve albumin bulguları.

ZAMAN	n	ALT	AST	T. Protein	Albumin
		(U/L)	(U/L)	(g/dl)	(g/dl)
		X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx	X ± Sx
Kontrol	10	35.00±1.48	47.71±4.06	5.67±0.01	2.77±0.04
Uygulama Sonrası					
1. Ay	10	463.57±3.50*	251.00±6.76*	4.93±0.02*	2.39±0.01*
2. Ay	10	540.00±7.15*	317.71±5.90*	1.77±0.01*	2.33±0.01*
3. Ay	10	611.00±7.81*	337.66±7.85*	4.39±0.03*	2.18±0.02*
4. Ay	10	642.60±3.48*	366.80±8.36*	4.29±0.05*	2.17±0.01*
5. Ay	10	673.33±8.81*	386.00±9.45*	4.25±0.02*	2.19±0.01*

İstatistiki olarak farkın önemi parametrenin kontrol değerine göre tespit edildi. * p<0.05

Tablo 6. Kronik deneme grubu köpeklerde uygulama öncesi ve sonrası haptogloblin, serüloplazmi, fibrinojen, redükte glutatyon ve malondialdehit bulguları.

Zaman	n	Haptogloblin	Serüloplazmin	Fibrinojen	Redükte	Malondialdehit
		(g/L)	(% mg)	(mg/dl)	Glutatyon	(nmol/ml)
		X±Sx	X±Sx	X±Sx	X±Sx	X±Sx
Kontrol	10	0.129±0.07	11.86±0.36	276.14±2.35	15.05±0.05	2.18±0.17
Uygulama Sonrası	1. Ay	0.680±0.01*	13.06±0.22*	302.85±2.49*	12.13±0.06*	4.33±0.06*
	2. Ay	0.780±0.01*	13.94±0.12*	336.57±1.52*	12.08±0.05*	4.32±0.06*
	3. Ay	0.939±0.01*	14.56±0.15*	380.16±1.47*	12.02±0.02*	4.30±0.03*
	4. Ay	1.032±0.01*	14.71±0.21*	378.00±3.03*	10.74±0.19*	4.82±0.05*
	5. Ay	1.198±0.04*	14.98±0.14*	406.00±4.58*	10.63±0.02*	4.87±0.03*

İstatistiki olarak farkın önemi parametrenin kontrol değerine göre tespit edildi. * p<0.05

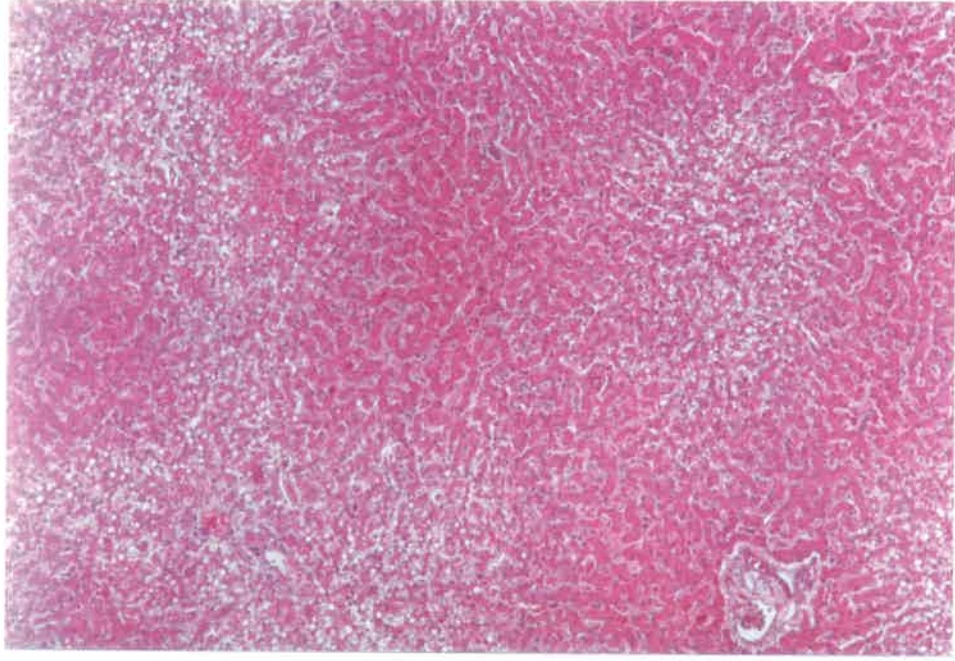
Histopatolojik Bulgular:

Akut Grup:

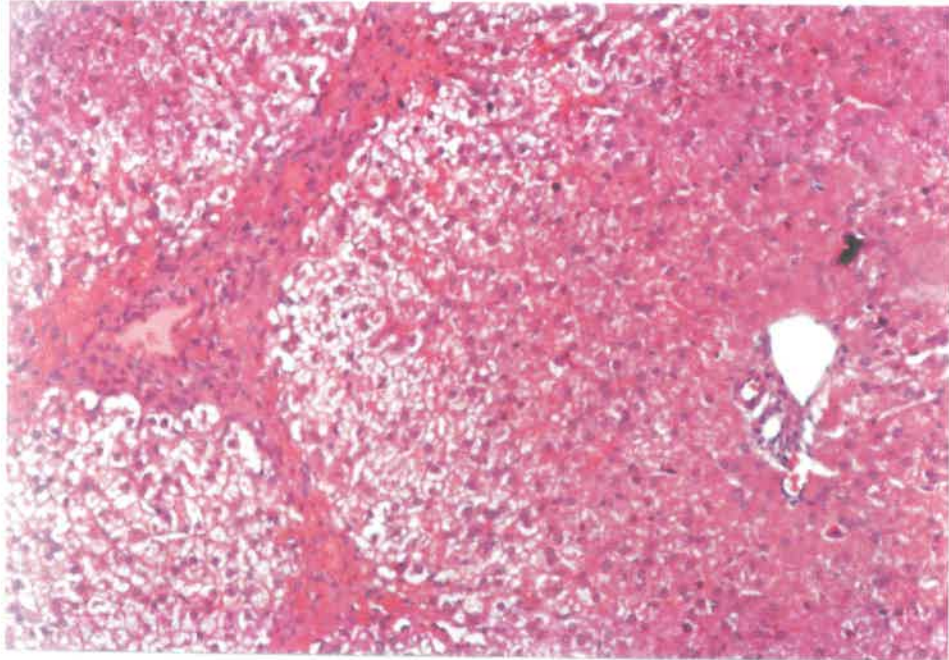
Akut grupta CCl₄ verilmesini takiben 3. ve 6. günde alınan karaciğer doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde sentrolobüler bölgede dejenerasyon şekillendiği görüldü. Hepatositlerin çoğunda karyoreksis, yağ dejenerasyonu ve nekrozlar ile yine sentrolobüler bölgelerde remark kordonlarının kaybolduğu, sinuzoidlerin düzensiz bir şekilde aldığı saptandı. Lobcukların periferinde ise ışık mikroskopik düzeyde patolojik bir değişikliğin olmadığı dikkati çekti (Resim 1.).

Kronik Grup:

Kronik gruptan hazırlanan kesitlerin histopatolojisinde V. sentralis çevresi ile portal bölgede fibrozis saptandı. V sentralis çevresindeki bu bağdokunun komşu V. sentralisler arasında uzanarak septalar oluşturması sirozun şekillendiğini gösterdi.



Resim 1. Akut toksikasyon grubu köpeklere ait karaciğer doku örneğinin histopatolojik görünümü (HE x 80)



Resim 2. Kronik toksikasyon grubu köpeklere ait karaciğer doku örneğinin histopatolojik görünümü (HE x 190)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Karaciğer bir çok metabolik olayın (protein, karbonhidrat, yağ, mineral ve vitamin) içinde cereyan ettiği aktif ve önemli bir organdır. Bu nedenle çeşitli faktörlere bağlı olarak karaciğer dokusu sık ve yaygın olarak dejenerasyona uğramaktadır. (1-3, 25-27).

Köpeklerde görülen akut ve kronik karaciğer hastalıklarının gerek görülme oranları ve gerekse ölümlere yol açmaları bakımından köpek hastalıkları içinde önemli bir oran teşkil ettiği saptanmıştır(1-3). Bu konuda Hottendorf ve Hirth (28) yaptıkları bir araştırmada; genç köpeklerde fokal karaciğer nekrozlarına % 65 oranında rastlandığını ifade etmişlerdir. Aynı şekilde köpeklerdeki karaciğer hastalıklarının varlığı ve hastalığın görülme oranları üzerinde ülkemizin değişik bölgelerindeki araştırma kliniklerinde yapılan çalışmalarda; bu hastalıkların köpekler için çok önemli bir sorun olduğu ortaya konulmuştur (27, 29).

Köpeklerde akut ve kronik karaciğer hasarlarında teşhis amacıyla dünya üzerinde bugüne kadar değişik tespit yöntemlerine başvurulmuştur. Ancak, bugüne kadar köpeklerdeki bu hastalıkların tanısında akut faz proteinleri ile lipid peroksidasyon ürünlerinin önemi üzerinde birlikte yapılmış ayrıntılı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Buna karşın insan hekimliğinde özellikle ilerlemiş karaciğer hastalıklarının spesifik tanısında akut faz proteinlerinin kullanıldığı tespit edilmiştir (30, 31).

Denemeye alınan her iki grup köpekte akut ve kronik toksikasyon oluşturmak üzere CCl₄ materyal ve metot bölümünde belirtildiği şekilde verilerek meydana getirilmiştir.

Akut toksikasyonun oluşturulduğu köpeklerde; klinik belirtiler CCl₄ uygulamasından 24 saat sonra ortaya çıkarken, kronik toksikasyonun oluşturulduğu grupta ise bu belirtilerin uygulamayı takip eden 3. ve 4. haftadan itibaren ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Bazı araştırmacılar tarafından (27, 29, 32) akut karaciğer toksikasyonlu köpeklerde tespit edilen iştahsızlık, halsizlik, sulu kıvamda dışkılama, abdominal palpasyonda duyarlılık gibi bulgular tarafımızdan da tespit edilmiştir.

Sevelius (25) histopatolojik muayeneler sonucunda kronik hepatit ve siroz olduğu tespit edilen 79 köpekte; kronik bulgu olarak iştah azalması, letarji, kusma ve ishal belirlediğini ifade etmiştir. Aynı araştırmacı muayenesini yaptığı 79 köpekten 43 tanesinde asites tablosunu tespit ederken, bu hayvanların sadece 16 tanesinde ikterusa rastladığını bildirmiştir. Ayrıca, denemeye aldığı köpeklerin 33 tanesinde de siroz teşhisi koyduğunu vurgulamıştır.

Diğer bir araştırmada Chepman ve ark. (33) kronik hepatitli dört köpek üzerinde yaptıkları bir araştırmada; hasta köpeklerde anorexi, abdominal ağrı, kilo kaybı, kusma, ishal, asites, polidipsi ve ikterus tablosu belirlediklerini ve bu hayvanların bir tanesinde de temporal kaslarda şiddetli atrofi geliştiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, ikterus tablosunun denemeye alınan iki hayvanda gözlendiğini, asitesin ise dört hayvanda belirlendiğini beyan etmişlerdir.

Araştırmamızda ise kronik karaciğer hasarı oluşturulan köpeklerde durgunluk, halsizlik, anorexi ve abdominal palpasyonda duyarlılık gibi bulgulara ek olarak sulu defekasyon, kilo kaybı, 1, 6, 9 ve 10 nolu köpeklerde mukoza ve konjunktivalarında ikterus tablosu, idrarda koyulaşma (8. ve 13. haftadan itibaren bütün köpeklerde), dışkı renginde açılma (4. aydan itibaren bütün köpeklerde) ve asites tablosu (6, 7, 8 ve 10 nolu köpeklerde) belirlenmiştir. Bu bulgular yukarıda bildirilen araştırmacıların (32-34) bulguları ile benzerlik göstermektedir. Fakat, kronik karaciğer toksikasyonu oluşturulan deneme grubu köpeklerde saptanan asites (dört köpekte), yoğun kıl dökülmesi (üç köpekte), dudaklar çevresinde papülom oluşumu ve bazı hayvanların konjunktivalarında siyanotik renk görünümü bu araştırmacıların bulguları ile farklılık arz etmektedir.

Bazı araştırmacılar (35, 36) tarafından belirtildiği gibi akut karaciğer toksikasyonlu köpeklerde yapılan kan muayenelerinde eritrosit, total lökosit ve trombosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit değerlerinde istatistiki açıdan önemli sayılabilecek herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği tarafımızdan da aynı şekilde saptanmıştır.

Mwansa ve ark. (34)'nın deneysel olarak kronik karaciğer toksikasyonu oluşturdukları köpeklerde eritrosit sayısında azalma tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, hemoglobin değerlerinin de 8., 9. ve 10. haftalarda

azalmaya devam ettiğini ve bu azalmaların istatistiki açıdan da önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Fakat, yapılan bu çalışmada kronik toksikasyon oluşturduğumuz köpeklerde eritrosit ve trombosit sayıları ile hemoglobün değeri istatistiki bakımdan önemli sayılabilecek bir değışikliğin meydana gelmediğini tespit ettik ($p>0.05$).

Yine Mwansa ve ark. (34) kronik karaciğer toksikasyonu oluşturdukları köpeklerde tespit ettikleri total lökosit sayılarında herhangi bir değışikliğin meydana gelmediği şeklindeki bildirimlerinden farklı olarak, bizim çalışmada Sevelius (25)'un bulgularına uygun olarak total lökosit sayılarında denemenin 1., 2., 3., 4. ve 5. aylarında sürekli bir artış kaydettik ve bu artışın aynı zamanda istatistiki açıdan önemli olduğunu belirledik ($p<0.05$). Total lökosit sayısındaki bu artışın vücutta gelişen akut faz stimülasyonu sonucu ortaya çıktığını düşünmekteyiz.

Akut toksikasyon oluşturduğumuz köpeklerde denemenin 6. saatten itibaren serum ALT ve AST değeri yükselmelerin başladığı, bu artışların denemenin 48. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı, 72. Saatten itibaren serum ALT ve AST değeri azalmaların başladığı ve bu durumun denemenin sonuna kadar devam ettiği saptanmıştır. Deneme sırasında tespit edilen bütün serum ALT ve AST değeri kontrol değeri göre yüksek olduğu ve bunların aynı zamanda istatistiki açıdan da önemli oldukları belirlenmiştir. Bu konuda Vörös ve ark. (37) köpeklerde yaptıkları bir araştırmada; CCl_4 ile akut toksikasyon oluşturdukları deneme hayvanlarında serum ALT ve AST değeri denemenin 2. gününden itibaren yükselmeye başladığını, serum AST değeri denemenin 5. gününde normal seviyeye döndüğü, ancak serum ALT değeri deneme boyunca bütün köpeklerde yüksek kaldığını ifade etmiştir.

Kronik toksikasyon oluşturduğumuz deneme grubu köpeklerde serum ALT ve AST değeri denemenin birinci ayından itibaren yükselmelerin başladığı ve bu parametrelerdeki artışların denemenin sonuna kadar devam ettiğini tespit ettik. Deneme süresince saptadığımız bütün değeri kontrol grubu değeri göre yüksek olduğu ve istatistiki açıdan da önemli olduklarını saptadık.

Serum albumin ve total protein düzeyi bu maddelerin karaciğer sentezinin azalması veya vücuttan atılımının artmasına bağlı olarak değışir. Total protein ve albumin düzeyindeki önemli kayıplar özellikle karaciğerdeki şiddetli paranzim hasarına neden olan hastalıklar sırasında ortaya çıkar. Yapılan çalışmalarda vücutta hipoalbumineminin oluşması için karaciğer fonksiyonlarının yaklaşık % 80 oranında azalması gerekmektedir. (6, 25).

Biz bu çalışmada; akut grupta yer alan köpeklerde serum total protein ve albumin değeriindeki değışikliklerin normal sınırlar içerisinde kaldığını ve kontrol grubu ile bu değeri kıyaslandığında aradaki farkın istatistiki açıdan önemli olmadığını saptadık ($p>0.05$). Buna benzer çalışmada Abdelkader ve Hauge (7) akut hepatik hasar oluşturulan köpeklerde serum total protein ve albumin miktarlarında önemli bir değışikliğin olmadığını bildirmişlerdir.

Sevelius (25) kronik hepatitli ve sirozlu 79 köpek üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada; serum albumin konsantrasyonunda istatistiki olarak önemli düzeyde azalma olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, albumin konsantrasyonundaki bu azalmayı hem karaciğer fonksiyonlarının bozulması sonucu albumin sentezinin azalmasına hem de karaciğerin pozitif akut faz proteinlerinin sentezine yönelmesine bağlanabileceğini ifade etmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada ise kronik toksikasyonun oluşturulduğu köpeklerde total protein ve albumin seviyelerinde sürekli bir azalmanın meydana geldiği ve bu azalmanın istatistiki açıdan da önemli olduğunu belirledik ($p<0.05$). Serum albumin seviyelerinde görülen bu düşüşlerin daha önce bu konuda görüş beyan eden Sevelius (25)'un görüşlerine katılıyoruz.

Organizmada bir doku hasarı veya enfeksiyon oluştuğu zaman ilk bir kaç gün içerisinde fizyolojik akut faz cevabı oluşur. Bu yanıtı takiben hepatik orijinli bazı plazma proteinlerinin sentezinde artış gözlenir. Yine bu akut faz cevabı süresince organizmada lokal ve sistemik reaksiyonlar ile metabolik değışimler meydana gelir. Homeostazisin bozulmasıyla (enfeksiyon, doku hasarı, neoplastik büyüme, immunolojik bozukluklar) lokal reaksiyon olarak lökositlerde, fibroblastlarda, endotelial hücrelerde

aktivasyon, IL 6, IL 1 ve tümör nekroz faktörün salınımında artışlar görülmektedir. Sistemik reaksiyonlar olarak organizmada ateş, lökositozis, eritrosit sedimentasyon hızında artış, ACTH ve glukokortikoid sekresyonunda artış, negatif azot dengesi ve karaciğer tarafından sentezlenen akut faz proteinlerinin konsantrasyonlarında yükselme ile karakterize değişimler gözlenir. Doku hasarı ve enfeksiyon durumlarında genelde bu akut faz proteinlerinin konsantrasyonlarında % 25 veya daha fazla artışlar görülebilmektedir (11, 12).

Haptogloblin, plazmada serbest hemoglobini bağlayan bir akut faz proteindir ve glukoprotein yapısındadır. Bir molekül haptogloblin bir molekül hemoglobini bağlar. Haptogloblinin hemoglobine bağlanması ile idrarla hemoglobin ve demir kaybı önlenmiş olur. İkisinin yaptığı kompleks, retikuloendotelial sistemde parçalanarak amino asitler ve demir açığa çıkar (38). Bir kısım araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda köpeklerde haptogloblin miktarının bazı hastalıklarda (cerrahi travmayı takiben, tripanosomiazis, erlichiozis hastalıklarında, diroflariaziste, yangısal hastalıklarda, hepatitiste, kronik nonspesifik hepatitiste, akut ve kronik kolongiohepatitiste, akut karaciğer hastalıklarında) arttığı belirtilmiştir (8, 10, 12).

Köpeklerin karaciğer hastalıklarında akut faz proteinlerinden haptogloblin ile ilgili yapılmış ayrıntılı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Ancak Zhao ve Zhang (39) tarafından karaciğer sirozlu hastalarda yapılan bir çalışmada, haptogloblin konsantrasyonunun sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubuna göre istatistiki açıdan önem arz edecek oranlarda yüksek çıktığı saptanmıştır.

Sevelius ve Andersson (40) tarafından kronik progressif hepatitli 22 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada haptogloblin düzeyinde yaklaşık %150 oranında bir artış olduğu bildirilmektedir.

Analizler sırasında haptogloblin miktarının akut deneme grubunda 6. saatten itibaren artmaya başladığı, 72. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı, 96, 120 ve 144. saatlerde yavaş bir şekilde düşmeye başladığı, kronik grupta ise yükselmenin aylara göre sürekli bir şekilde devam ettiği ve 5. ayda pik seviyeye ulaştığı gözlemlendi. Yapılan istatistiki analizlerde akut deneme grubunda kontrol grubu değerlerine göre 6. ve 12. saatlerdeki artışların önemli olmadığı ($p>0.05$), 24., 48., 72., 96., 120. ve

144. saatlerde $p<0.05$ düzeyinde bir önemin olduğu, kronik grupta ise kontrol verilerine göre bütün aylarda (1, 2, 3, 4 ve 5. ay) istatistiki açıdan $p<0.05$ düzeyinde önemli olduğu saptandı. Dolayısıyla bu değerler yukarıda sözü edilen araştırmacıların (39, 40) görüşleri ile paralellik arz etmektedir. Haptogloblin miktarındaki bu artışların, oluşturulan toksikasyondan dolayı hem karaciğer paraneşim hücrelerindeki dejenerasyonlara bağlı olarak salınımının artması, hem de bir akut faz cevabı olarak organizma tarafından sentezinin artırılmasına bağlı olarak yükseldiği düşünülmektedir.

Serüloplazmin, plazmanın bakır taşıyıcı bir proteindir. Her bir molekülünde 6-7 bakır atomu bulunur. Taşıdığı bakır atomlarından dolayı mavi bir renk gösterir. Serüloplazmin organizmada bir enzim rolü üstlenir. Bu rolünden dolayı buna bakır oksidaz ismi de verilmiştir. Ayrıca serüloplazminin antioksidan fonksiyonları da vardır. Ferro demirin (Fe^{++}) ferri demire (Fe^{+++}) oksitlenmesini sağlar. Böylece demirin, transferrinin yapısına girmesini sağladığından serüloplazmine ferro oksidaz adı da verilir. Serüloplazminin enfeksiyon, malignansi ve cerrahi travmalarda kandaki seviyesinin yükseldiği bildirilmektedir (38). Köpeklerin karaciğer hastalıklarında serüloplazmin ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Loginov ve arkadaşları (41) kronik hepatitli hastalarda antioksidan enzimler ve serüloplazmin aktivitelerini değerlendirmişler ve hem antioksidan enzimlerde hem de serüloplazmin miktarlarında yükselmelerin olduğunu saptamışlardır. Ritland ve arkadaşları da (42) karaciğer sirozlu, kronik aktif hepatitli, primer biliyer sirozlu hastalarda serum serüloplazmin ve karaciğer bakır konsantrasyonları ile ilgili yaptıkları bir araştırmada tüm hastalarda karaciğer bakır konsantrasyonu ile serum serüloplazmin aktivitelerinde belirgin artışların olduğunu bildirmişlerdir.

Van Gool ve arkadaşları (43) da CCl_4 intoksikasyonu ile ratlarda oluşturdukları karaciğer fibrozisinde toksikasyon süresince akut faz proteinlerinden serüloplazmin ve haptogloblin miktarlarında belirgin artışların olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada köpeklerde serüloplazmin miktarı akut karaciğer toksikasyonu oluşturulanlarda 48. saatte önemli bir artışın söz konusu olduğu, buna karşın diğer 6., 12., 24., 72.,

96., 120. ve 144. saatlerde kontrol değerinde tespit edilen serüloplazmin seviyesinde istatistiki açıdan önemli sayılabilecek bir farkın olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Kronik gruptaki ölçümlerde ise tüm aylardaki artışların önemli olduğu ($p<0.05$) saptandı. Bu çalışmadaki, serüloplazmin ile ilgili bulguların diğer araştırmacıların (41-43) bulguları ile uyum içinde olduğu görüldü.

Fibrinojen, inflamasyonla seyreden hastalıklar ve neoplastik hastalıklarda lökosit sayımından daha duyarlı indikatör bir maddedir. Aktif doku yıkımının durmasıyla normal miktarlarına dönen fibrinojen değerleri daha ziyade kronik hastalıklarda karakteristik bir özellik gösterir. Kanser, ateşli hastalıklar, artrit, bakteriyel enfeksiyonlar ve hepatitis gibi inflamasyonu stimüle eden hastalıklarda fibrinojen plazma konsantrasyonunun normal düzeyinin yarım veya iki katı kadar artabileceği bildirilmiştir (10, 44, 45). Ayrıca Neubauer ve arkadaşları (44) ratlarda CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarında fibrinojen miktarında artışların olduğunu, bu artışların hepatic fibrozis oluşana kadar artarak devam ettiğini belirtmişlerdir.

Pandey ve arkadaşları (45) tarafından deneysel olarak köpeklerde oluşturulan CCl_4 toksikasyonunda, fibrinojen miktarında yükselmelerin olduğu bildirilmiştir.

Akut deneme grubundaki yükselmelerin 2. günde en yüksek değere ulaştığı, kronik grupta ise bu artışın 5. aya kadar yükselerek devam ettiği ve 5. ayda en yüksek değere ulaştığı gözlemlendi. İstatistik analizlerde kontrol değerlerine göre her iki deneme grubundaki artışların anlamlı olduğu saptandı ($p<0.05$).

Bu araştırmada akut grupta ölçülen lipid peroksidasyon ürünü MDA konsantrasyonundaki artışlar 4. günde en yoğun seviyeye ulaştığı gözlenirken kronik deneme grubunda ise en yüksek konsantrasyonun 5. ayda olduğu tespit edildi. İstatistik analizlerde hem akut hem de kronik gruplardaki artışlar kontrollerine göre önemli bulundu ($p<0.05$).

İstatistiki analizlerde akut grup kontrol değerine göre deneme grubunda redükte glutasyon miktarındaki azalmalar 144. saat hariç, diğer zamanlarda istatistiki açıdan önemli bulunurken ($p<0.05$), kronik gruptaki konsantrasyon azalışları

kontrol değerine göre bütün aylarda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bulundu.

Pek çok hastalığın patogenezinde artan reaktif oksijen metabolitlerinin rolünden söz edilmektedir. Serbest radikaller, genelde çeşitli iç ve dış etkenlere bağlı olarak, üretimlerindeki artışı takiben başta membran fosfolipidleri olmak üzere hücresel bileşiklerin tümüne (karbonhidrat, lipid, protein, DNA vs) zarar vermekte, membranlar depolarize olmakta, parçalayıcı enzimlerin aktivitesi artmakta, hücre zarının permeabilitesi ve elektrik yük dengesi değişmektedir (16). Yağı (46) hepatitisli, karaciğer sirozlu ve karaciğer yağlanması olan hastalarda yapmış olduğu bir çalışmada, lipid peroksidasyon ürünlerinde anlamlı düzeylerde artışların olduğunu bildirmiştir.

Özdem ve Şadan (47) CCl_4 'e bağlı gelişen karaciğer hasarlarında eksojen olarak hücrelerde serbest radikallerin arttığını ifade etmektedirler. Bu ve benzeri etkenlere bağlı gelişen karaciğer hasarlarında serbest radikal gidericilerinin bu hastalıkların tedavilerinde yararlı olduğu vurgulanmaktadır.

Ichinose ve arkadaşları (48) ise köpek ve bazı hayvanlarda CCl_4 ile oluşturdukları karaciğer toksikasyonunda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın konsantrasyonlarında anlamlı yükselmelerin olduğunu da bildirmişlerdir.

Sonuç olarak;

1-Karbontetraklorür (CCl_4) ile akut toksikasyon oluşturulan köpeklerde akut faz proteinlerinden haptoglobin ve fibrinojen miktarındaki anlamlı düzeydeki artışın ilk saatlerden başlayarak devam ettiği, bunun da haptoglobin ve fibrinojenin karaciğer hastalıklarının erken tanısında faydalı olabileceği;

2- Kronik toksikasyon oluşturulan köpeklerde ise haptoglobin, serüloplazmin ve fibrinojenin istatistiki açıdan belirgin düzeyde anlamlı olmasıyla kronik karaciğer hastalıklarının tanı ve prognozunun değerlendirilmesinde önemli oldukları;

3- Lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit miktarında hem akut hem de kronik toksikasyon ölçümlerindeki artışların karaciğer hastalıklarının şekillenmesi sırasında yükseldiği ve karaciğer hasarının derecesi ile paralellik arz ettiği;

4-Antioksidan fonksiyona sahip olan redükte glutasyon miktarının karaciğer hasarının şiddetine bağlı olarak azaldığı sonucuna varıldı.

Buna göre; akut ve kronik karaciğer hasarlarında akut faz proteinleri (haptoglobin, serüloplazmin ve fibrinojen) ile lipid peroksidasyonun (redükte glutasyon ve malondialdehit) tanıda önemli bir kriter olarak kullanılabilceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- 1-Simpson JW, Else RW: Digestive disease in the dog and cat. Library of Veterinary Practice. Blackwell Scientific Publications, London. 204-249, (1991).
- 2-Ettinger SJ, Feldman EC: Textbook of veterinary internal medicine. Vol:2, W.B. Saunders Comp, Philadelphia, USA.1261-1371, (1995).
- 3-Turgut K, Ok M: Veteriner gastroenteroloji. Bahçivanlar Basım San. AŞ. Konya. 208-260, (1997).
- 4-Guyton AJ, Hall JE: Guyton & Hall textbook of medical physiology. 9th Ed. W.B. Saunders Comp, Philadelphia. 827-829, (1996).
- 5-Alibaşoğlu M, Yeşildere T: Patoloji. İ.Ü. Vet. Fak. Pethask Yay, İstanbul, (1988).
- 6-Turgut K: Veteriner klinik laboratuvar teşhis. Konya. Bahçivanlar Basım San. AŞ. Konya, (2000).
- 7-Abdelkader SV, Hauge JG: Serum enzyme determination in the study of liver disease in dogs. Acta Vet. Scand. 27: 59-65, (1986).
- 8-Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM: Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: A Review. Vet. Bulletin, 64(11), (1994).
- 9-Conner JG, Eckersall PD, Ferguson J, et al.: Acute phase response in the dog following surgical trauma. Res. Vet. Sci. 45, 107-110, (1988).
- 10-Eckersall PD, Conner JG: Bovine and canine acute phase proteins. Vet. Res. Com. 12, 169-178, (1988).
- 11-Woo P, Gorman NT. The acute phase protein response and amyloidosis. (in veterinary clinical immunology) Ed. Halliwell, R.E.W., WB Saunders Company, Philadelphia. 97-106, (1989).
- 12-Heinrich PC, Castell TV, Andus T: Interleukin 6 and the acute phase response. Review Article. Biochem. J. 265, 621-636, (1990).
- 13-Benoit E, Denis JL, Garnier F: Intérêt diagnostique du dosage de l'haptoglobine chez le chien. Hématologie. Janvier-Février, No:1, 55-58, (1988).

- 14-Akkuş İ: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, (1995).
- 15-Moslen MT: Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phatogocytosis, free radicals in diagnostic medicine, Ed.D. Armstrong Plenum Press, New York Pp. 1 - 15, (1994).
- 16-Sinclair AJ, Barnett AH, Junec J: Free radicals and antioxidant systems in health and disease, British J. Hosp. Med., 43, 334 344, (1990).
- 17-Bendich A: Antioxidant nutrients and immune functions- introduction, in. antioxidants in therapy and preventive medicine, Ed. Emerit, I., Packer, L. and Auclair, C., Plenum Press, New York, pp.1 12, (1990).
- 18-Aguilera-Tejero E, Mayer-Valor R, Gomez-Cardenas D: Plasma bile acids, lactate dehydrogenase and sulphobromophthalein retention test in canine carbon tetrachloride intoxication. J. Small. Anim. Pract., 29, 711-717, (1988).
- 19-Braun JP, Siest G, Rico AG: Uses of gamma-glutamyltransferase in experimental toxicology, advances in veterinary science and comparative medicine. 31, 151-173, (1987).
- 20-Batchelor J, Fuller J, Woodman DD: A simple method for measurement of the haemoglobin binding capacity of canine haptoglobin. Laboratory Animals, 23, 365-369, (1989).
- 21-Yenson M: Klinik biyokimya laboratuvar ders kitabı. İstanbul, (1986).
- 22-Beutler E, Duron O, Kelly BM: Improved method for the determination of blood glutathione. J.Lab.Clin.Med., 61(5), 882-888, (1963).
- 23-Bancroff JD, Cook HC: Manual of histological techniques. Chruchill Livingstone, New York, (1984).
- 24- Hayran M, Özdemir Ö: Bilgisayar istatistik ve tıp. Hekimler Yayın Birliği. Medicomat, Ankara, (1996).
- 25-Sevelius E: Diagnosis and prognosis of chronic hepatitis and cirrhosis in dogs. J. of Small Amin. Prac. 36, 521-528, (1995).
- 26-Rutgers C: Liver disease in dogs. In Practice. Oct, 433-444, (1996).
- 27-Turgut K, Demir C, Ok M, Çiftçi MK: Ultrasonographic evaluation of the liver damage in the dog with carbon tetrachloride in toxication. Turkish J. Vet. and Anim. Sci. 19: 335-338, (1995).
- 28-Hottendorf GH, Hirth RS: Lesions of spontaneous subclinical disease in beagle dogs. Vet. Path. II: 240-258, (1974).
- 29-Tütüncü M: Köpeklerde deneysel oluşturulan karaciğer toksikasyonlarında klinik hematolojik, biyokimyasal ve ultrasonografik bulgular. Doktora Tezi, Van, (1998).
- 30-Saenko EL, Skorobogat'ko OV, Yaropolov AI: Protective action of blood ceruloplasmin obtained from normal individuals on red blood cells compared with that from patients with wilson's disease. Biomed. Sci., 1, 453, (1990).
- 31-Zhang YJ, Zhao DH, Huang CX: The changes in copper contents and its clinical significance in patients with liver cirrhosis and hepatocarcinoma. (article in chinese) Chung Hua Nei Ko Tsa Chih. 33(2), 113-116, (1994).
- 32-Altuğ N: Köpeklerde deneysel olarak oluşturulan karaciğer toksikasyonunun tanısında adenoazin deaminazın önemi. Yüksek Lisans Tezi, Van, (1999).
- 33-Chapman BL, Hendrick MJ, Washabau RJ: Granulomatous hepatitis in dogs: nine cases (1987-1990). JAVMA, 203 (5): 680-684, (1993).
- 34-Mwansa T, Miyamoto T, Okumura M, Kadosawa T, Fujinaga T: Ultrasonography, biochemical and hematological profiles in liver disease caused by intravenous administration of dimethylnitrosamine in dogs. Jpn. J. Vet. Res. 45 (3), 153-161, (1997).
- 35-Fujiwara K, Oka Y, Ogata I, Ohta Y, Sato Y, et al.: Exchange blood transfusion for acute hepatic failure: its limited availability depending on the type of injury in rats. Artipicial Organs, 12, 3: 227-233, (1988).
- 36-Ronneberger H, Hein B: Effect of antithrombin iii on experimental hepatotoxin poisoning in dogs. Arzneimittelforschung. 34, 3: 277-279, (1984).
- 37-Vorös K, Albert M, Vetesi F, Harmat G, Binder K, Szaniszlo F: Hepatic ultrasonographic findings in experimental carbon tetrachloride intoxication of the dog. Acta. Vet. Hung. 45, 2: 137-150, (1997).

38-Akkuş İ: Klinik biyokimya laboratuvar el kitabı. Öz Eğitim Basın Yayın Dağıtım Ltd. Şti. İstanbul. 128-136, (1997).

39-Zhao H, Zhang G: Haptoglobin groups and cirrhosis of the liver. *Hum. Hered.*, 43(2), 134-136, (1993).

40-Sevelius E, Andersson M: Serum protein electrophoresis as a prognostic marker of chronic liver disease in dogs. *The Vet. Rec.* 137, 663-667, (1995).

41-Loginov AS, Matiushin BN, Chebanov SM, Reshetniak VI: Cholestasis assessment by activity of antioxidant enzymes and composition of plasma lipoproteins in patients with liver diseases. *Ter. Arkh.* 70 (4): 40-42, (1998).

42-Ritland S, Steinnes E, Skrede S:

Hepatic copper content, urinary copper excretion and serum ceruloplasmin in liver

disease. *Scan. J. Gastroent.*, 12, 81-88, (1983).

43-Van Gool J, De Nie I, Smit J, Zuyderhoudt FM: Mechanisms by which acute phase proteins enhance development of liver fibrosis: effects on collagenase and proly-4-hydroxylase activity in the rat liver. *Exp. Mol. Pathol.* 45(2), 160-170, (1986).

44-Neubauer K, Knittel T, Armbrust T, Ramadori G: Accumulation and cellular localization of fibrinogen/fibrin during short-term and long-term rat liver injury. *Gastroenterology.* 108(4), 1124-1135, (1995).

45-Pandey GP, Shrivastava PN, Sharma IJ, Sahni YP: A study of plasma protein patterns during experimental hepatotoxicity and livol treatment. *J. Vet. Phys. and Allied Sci.* 10: 1-2, 21-25, (1991).

46-Yagi K: Lipid peroxidase and related radicals in clinical medicine, free radicals in diagnostic medicine. Ed.. D. Armstrong, Plenum Press, New York, Pp. 17-27, (1994).

47-Özdem SS, Şadan G: Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Üni. Tıp Fak. Derg.* XI, 1, 63 71, (1994).

48-Ichinose T, Miller MG, Shibamoto T: Determination of free malondyaldehyde formed in liver microsomes upon CCl₄ oxidation. *J. Appl. Toxicol.* 14 (6): 453-455, (1994).