

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÖPEKLERDE DENEYSEL OLARAK
OLUŞTURULAN KARACİĞER TOKSİKASYONUNUN TANISINDA ADENOZİN
DEAMİNAZİN ÖNEMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Vet. Hek. Nuri ALTUĞ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman

Prof. Dr. Zahid Tefvik AĞAOĞLU

88652

VAN-1999

**T.C. YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÖPEKLERDE DENEYSEL OLARAK
OLUŞTURULAN KARACİĞER TOKSİKASYONUNUN TANISINDA ADENOZİN
DEAMİNAZİN ÖNEMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Vet. Hek. Nuri ALTUĞ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

JURİ BAŞKANI

Prof. Dr. Zahid T. AĞAOĞLU

ÜYE

Doç. Dr. Yakup AKGÜL

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. İhsan KELEŞ

Tez Kabul Tarihi : 20.09. 1999

I. İÇİNDEKİLER	I
II.KISALTMALAR	II
1.ÖZ	III
2.ABSTRACT	IV
3.ÖNSÖZ	V
4.GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
4.1.Karaciğer	1
4.2.Karaciğer Hastalıkları	3
4.3.Karbontetraklorür İntoksikasyonu	4
4.4.Karaciğer Hastalıklarında Tanı Yöntemleri	4
4.5.Adenozin Deaminaz	13
5.MATERYAL VE METOT	26
5.1.Materyal	26
5.2.Metot	27
6.BULGULAR	32
6.1.Klinik Bulgular	32
6.2.Hematolojik Bulgular	32
6.3.Biyokimyasal Bulgular	33
6.4.Histopatolojik Bulgular	37
7.TARTIŞMA VE SONUÇ	40
8.ÖZET	46
9.SUMMARY	47
10.KAYNAKLAR	48
11.ÖZGEÇMİŞ	64

II.KISALTMALAR

CCL ₄	: Karbontetraklorür
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
LDH	: Laktat dehidrogenaz
ARG	: Arginaz
GGT	: Gamma glutamiltransferaz
GLDH	: Glutamat dehidrogenaz
SDH	: Sorbitol dehidrogenaz
OCT	: Ornitil karbamil transferaz
ALP	: Alkalen fosfataz
LAP	: Löysin aminopeptidaz
5'-N	: 5-Nükleotidaz
TP	: Total protein
TBR	: Total bilirubin
DBR	: Direkt bilirubin
ASA	: Açlık safra asidi
TSA	: Tokluk safra asidi
DMNA	: Dimetil nitrozamin
BSP	: Sulphobromophthalein
HBDH	: Hidroksi bütirat dehidrogenaz
ADA	: Adenozin deaminaz
AK	: Adenozin kinaz
PNP	: Purin nükleotid fosforilaz
APRT	: Adenin fosforibozil transferaz
HGPRT	: Hipoksantin guanin fosforibozil transferaz
DCF	: 2-Deoksikoformisin
EHNA	: Eritro 9-2 hidroksi 3 nonil adenin
CP	: Kompleks protein
CRD	: Sitidin deaminaz
İCDH	: İzositrik dehidrogenaz

1. ÖZ

Bu çalışmada, köpeklerde deneysel olarak oluşturulan karaciğer toksikasyonunda klinik, hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik bulgular değerlendirilerek, adenoazin deaminaz'ın karaciğer hasarının belirlenmesindeki etkinliği araştırıldı.

Çalışmanın materyalini 20 adet sağlıklı melez köpek oluşturdu. Akut toksikasyon grubuna (10 köpek) bir kez 1.5ml/kg dozunda, kronik toksikasyon grubuna (10 köpek) ise 12 hafta süreyle haftada iki kez 0.5ml/kg dozunda karbontetraklorür'ün zeytin yağındaki (1:1) süspansiyonu, 12 saatlik açlığı takiben orogastrik sondayla verildi. Bütün köpekler deneme öncesi (2 gün) ve deneme süresince akut toksikasyon grubu köpekler denemenin 1.,3.,5.,7. ve 9. günlerinde, kronik toksikasyon grubu köpekler ise 21 gün arayla 4 kez klinik muayene, hematolojik ve biyokimyasal analizleri yapıldı.

Deneme süresince, akut toksikasyon grubunda iştahsızlık, durgunluk ve sulu defekasyon, kronik toksikasyon grubunda ise iştahsızlık, zayıflama, dışkı renginin açılması ve çamurumsu bir kıvam alması, koyu portakal sarısı renginde idrar ve depresyon gözlemlendi. Hematolojik bulgular incelendiğinde akut toksikasyon grubunda eritrosit ve hemoglobin düzeylerinde (3. günde) artış ($P<0.05$), kronik toksikasyon grubunda ise lökosit düzeylerindeki artış ($P<0.001$) istatistiki olarak önemli bulundu. Biyokimyasal parametrelerden AST, ALT, ALP ve ADA düzeylerindeki artış her iki grupta istatistiki olarak önemli bulundu ($P<0.001$). Karaciğerin histopatolojik incelemesinde akut toksikasyon grubunda hepatoselüler hidropik dejenerasyon, nekroz ve remark kordonlarında dissosiasyon, kronik toksikasyon grubunda ise portal bölgelerde, vena sentralislerin çevresinde ve yer yer paransime doğru uzanan bağ doku proliferasyonu (fibrozis) tesbit edildi.

Anahtar kelimeler: Köpek, karaciğer toksikasyonu, karbontetraklorür, klinik, hematoloji, biyokimya, ADA.

2. ABSTRACT

In the present study, ADA activities were investigated together with clinic, biochemical, haematological and histopathological findings in dogs experimentally toxicated to determine ADA's role on liver toxications.

In this study, 20 healthy cross-breed dogs were used. The dogs were divided in two groups of ten dogs as acute and chronic toxication group. CCL₄ were prepared in olive oil (1:1). Dogs in acute toxication group received 1.5 ml / kg CCL₄ once. Dogs in chronic toxication group received 0.5 ml / kg CCL₄ twice a week during 12 weeks period. The CCL₄ were inoculated to the dogs by orogastric probe after 12 hours of hunger. Clinical, haematological and biochemical analysis were made in all dogs 2 days before experiment, on days 1., 3., 5., 7. and 9 in acute toxication group and four times in 21 days intervals in chronic toxication group.

During experiment; inappetance, stillness and watery defecation in acute toxication group and, inappetance, weakness, light colour of gaita, dark orange colour of urine and depression in chronic toxication group were observed. Erithrocyte and haemoglobin levels increased significantly ($P < 0.05$) on third day in acute toxication group. On the other hand, total leucocyte levels increased significantly ($P < 0.001$) in chronic toxication group. Significantly important increases ($P < 0.001$) were also observed in biochemical parameters (serum AST, ALT, ALP and ADA) in both groups of dogs. In centrilobular and midzonal regions, precise hepatocelular hydropic degeneration, necroz and dissosiation in remarc cordons were observed in acute toxication group. On the other hand, fibrosis were observed in portal regions, around vena centralis and paranchime tissues in the chronic toxication group.

Key Words : Dog, liver toxication, CCL₄, haematology, biochemistry, ADA.

3. ÖNSÖZ

Ülkemizdeki gelir seviyesi artışına paralel olarak halkın sosyoekonomik durumunun iyileşmesiyle pet hayvancılığı günden güne daha önem arzeder bir duruma gelmiştir. Evcil hayvanların iç hastalıklarında klinik vakaların önemli bir kısmını karaciğer hastalıkları oluşturmaktadır. Birçok kompleks görevleri bulunan karaciğerin anatomik konumu nedeniyle direkt olarak klinik muayenesi yapılamadığı gibi karaciğer hastalıklarında klinik bulguların nonspesifik olması hastalığın tanısını güçleştirmektedir.

Bu nedenle karaciğer hastalıklarının tanı ve prognozunun belirlenmesinde biyokimyasal testler (AST, ALT, ALP, GGT, ASA ve TSA), ultrasonografi ve histopatolojik muayeneleri içeren tanı yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

Pürin nükleotid metabolizmasının indirgenmesinde anahtar enzimlerden biri olan ve karaciğerde kupfer hücrelerinde bulunan adenzin deaminaz, son yıllarda veteriner hekimliğin uygulama alanına girerek karaciğer hastalıklarının tanısında diğer rutin laboratuvar yöntemleriyle birlikte kullanılabilceği ifade edilmiştir.

Bu çalışmada, köpeklerde karbontetraklorür ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer toksikasyonunda klinik, hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik muayeneler değerlendirilerek, adenzin deaminazın karaciğer hasarının belirlenmesindeki etkinliği araştırılmıştır.

Bu çalışmanın her aşamasında desteğini gördüğüm danışman hocam sayın Prof. Dr. Zahid T. AĞAOĞLU ile sayın hocam Doç. Dr. Yakup AKGÜL'e, sayın Yrd. Doç. Dr. İhsan KELEŞ'e, İç Hastalıkları Anabilim Dalında görev yapan Araştırma Görevlilerine ve histopatolojik değerlendirmelere yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Zabid YENER'e yardımlarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

4. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

4.1. Karaciğer

4.1.1. Anatomi

Karaciğer karın boşluğunun sağında ve ön tarafında bulunan büyük kısmı sağ regiohypochondrica'da az bir kısmı sol regiohypochondrica'da altıncı kostal aralıktan onbirinci kostal aralığa kadar olan bölümde bulunan önemli bir organdır. Karaciğerin iki yüzü olup facies diaphragmatica ve facies visceralis'tir. Facies diaphragmatica karaciğerin diaphragmaya bakan ön yüzüdür. Facies visceralis karaciğerin organlara dönük yüzüdür ve orta kısmında enlemesine oblik, geniş bir yarık (porta hepatis) bulunur. Porta hepatis'ten karaciğere V.porta, A.hepatika ve plexus hepaticusun dalları girerken ductus hepaticus sinister ve dekster ile lenf damarları çıkmaktadır (1).

Köpeklerde karaciğer 4 loptan ibaret olup; bunlar lobus hepatis sinister (sol lop), lobus hepatis dekster (sağ lop), lobus quadratus ve lobus caudatus'dur. Sol ve sağ karaciğer lopları da lateral ve medial olmak üzere derin bir yarıkla ikiye ayrılmaktadır. Karaciğer peritonun oluşturduğu kıvrımlarla çeşitli karın organlarına ve değişik yerlere bağlanmaktadır. Bu bağlar ligamentum falciforme hepatis, ligamentum coronarium hepatis, ligamentum triangulare dekster et sinister ve ligamentum hepatorenale'dir (2, 3).

Karaciğerin atardamarı A.hepatika, karaciğerin toplardamarı ise V.porta ve V.hepatikadır. V.porta karaciğerin fonksiyonel damarı olup sindirim organlarından kanı toplayarak karaciğere girer. V.hepatika ise karaciğerdeki kanı V.cava caudalise taşıyan damardır. Karaciğerin sinirleri ise sempatik lifleri nn.splanchniciden, parasempatik iplikleri n.vagus'tan gelir. Bu iplikler birlikte plexus hepaticus'u oluşturmaktadır (2, 4).

4.1.2. Histoloji

Karaciğer karın boşluğundaki en büyük bezdir. Peritonun viseral yaprağı organı dıştan sarar ve altında bir bağ doku örtüsü bulunur. Bağdoku ile birlikte karaciğerin damarları ve kanalları organın içine girerek lopçukları oluşturur. Portal damar merkez kabul edilerek kan akımı yönüne göre şekillendirilen lopçuk esas olup portal lopçuk adını alır. V. porta ve A.hepatika ile lopçuklara gelen kan sinüzoidlere açılır. Sinüzoidler taşıdıkları kanı V.sentralise sevk eder. V.sentralislerin birleşmesiyle sublobular venalar, Sublobular venaların

birleşmesiyle de V.hepatika oluşur ve bunlar karaciğerin diyaframaya bakan yüzünden V.cava caudalise açılırlar (5, 6).

Lobuluslar arasında kiernan aralığı olarak adlandırılan bağdoku bulunur. V.interlobularis ve D.biliferuslar bulunmaktadır. Lopçuğun periferinden merkezine doğru kiernan aralığında V.hepatika, remark kordonları (ışınsal hücre kordonları) uzanır. Remark kordonları arasında kalan boşluklar sinüzoidler olarak adlandırılır. Endotel hücrelerinin aralarına yerleşen ve antijenik uyarım sonucunda aktifleşerek makrofajlara dönüşen yıldız şeklindeki hücreler ise kupferin yıldız hücreleri olarak adlandırılmaktadır (7, 8).

Safra, epitel hücreleri içinde intraselüler safra kapillarlarıyla taşınarak hücre yüzeyine ulaşır. Hücre dışına çıkan safra salgısı, karaciğer hücre kordonlarındaki iki sıralı hücreler arasından geçerek lopçuğun periferine doğru akar. Safra hücreler arasında safra kapillarlarıyla iletilir ve interselüler safra kanalcıkları lopçuğun dışına ulaştıklarında (hering geçidi) içinden safranın aktığı yassı epitel hücrelerinden duvarı olan ductus biliferusdan söz edilebilir. Ductus biliferusların birleşmeleri sonucu meydana gelen ve porta hepatitisten karaciğeri terk eden en büyük çaplı safra kanalı ductus hepaticusdur. Ductus hepaticus safra kesesinden gelen ductus sisticus ile birleştikten sonra ductus koledokus adını alır ve duodenumun başlangıç kısmına açılır (5, 7).

4.1.3. Fizyoloji

Karaciğer hücreleri çok yüksek metabolizma hızına sahip aktif kimyasal bir yapı oluştururlar. Bu yapıda metabolik fonksiyonlar yürütülmektedir. Karaciğerde yürütülen metabolik fonksiyonlar şu şekilde sıralanabilir:

Karbonhidrat metabolizmasında karaciğer glikojen depolama, galaktoz ve fruktozu glikoza çevirme, glikoneogenezis ve karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden birçok önemli kimyasal maddelerin oluşturulması fonksiyonlarını yürütmektedir (3, 9).

Yağ metabolizmasında karaciğer yağ asitlerinin büyük bir hızla beta oksidasyonu ve asetoasetik asit oluşumu, lipoproteinlerin çoğunun yapımı, büyük miktarda kolesterol ve fosfolipid sentezi ile karbonhidrat ve proteinin yağa çevrilmesi fonksiyonlarını yürütmektedir (4, 7).

Karaciğerin protein metabolizmasındaki başlıca fonksiyonları aminoasitlerin deaminasyonu, üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, plazma

proteinlerinin oluşumu ile vücuttaki metabolik olaylar için önemli aminoasitlerin ve diğer maddelerin birbirine dönüşümlerini içerir (3, 4).

Karaciğerin önemli metabolik fonksiyonlarından biri de safranın üretimi ve ekskresyonudur. Safra kanalcıklarının içerisinde hepatositler tarafından salgılanan safra, safra pigmentleri (başlıca konjuge bilirubin), safra asitleri, safra tuzları, kolesterol, fosfolipidler, bikarbonat ve alkalin fosfatı ihtiva eder ve safra kesesinde depo edilir. Safranın esas faaliyeti yağ alımı ve absorpsiyonudur (7, 10).

Karaciğer A, D, E, K ve B 12 vitaminlerini depolar, yağda eriyen vitaminlerin ise emilimini sağlar. Ayrıca iz elementlerin (Zn, Fe, Cu, Mn) depolanmasında da görev yapar (4, 9, 10).

Çoğu toksik maddeler, ilaçlar ve hormonların detoksifikasyonu ve ekskresyonu karaciğer tarafından yapılmaktadır. Kupffer hücreleri olarak adlandırılan fagositler portal kandan toksik maddelerin yanısıra bakteri, endotoksin ve selüler artıkları da uzaklaştırmaktadır. Karaciğerdeki çok aktif kimyasal ortam birçok ilacı (sülfamid, penisilin, ampicilin, eritromisin) detoksifiye ederek safra ile atılmasını sağlar. Yine iç salgı bezlerinden salgılanan tiroksin, östrojen, kortizol ve aldosteron gibi steroid hormonlar karaciğer tarafından ya kimyasal olarak değiştirilir yada dışarı atılır (4, 10, 11).

Karaciğer aynı zamanda kanda pıhtılaşma işleminde önemli rol oynayan fibrinojen, protrombin, heparin, akselaratör globulin, faktör V, VII, VIII, IX ve X 'un sentezini yapar (7, 9, 10).

4.2. Karaciğer Hastalıkları

Karaciğer hastalıkları parankimal, hepatobilier ve vasküler bozukluklar olmak üzere üç grupta incelenmektedir.

Karaciğerin parankimal hastalıkları; hepatik nekrozis, akut hepatik yetmezlik, akut ve kronik hepatitis, kronik bakır toksikasyonu, karaciğer apseleri, granülomatöz hepatitis, hepatik lipidozis, glikokortikosteroid hepatopati, hemokromatozis, hepatik amiloidozis, karaciğer tümörleri ve sirozdur (12, 13, 14, 15).

Karaciğerin hepatobilier hastalıkları; kolesistitis ve kolelithiazisdir (12, 16, 17).

Karaciğerin hepatik vasküler hastalıkları ise; portosistemik vasküler şantlar, arteriovenöz fistüller, kronik pasif konjesyon ve karaciğer lop torsiyonundan ibarettir (12, 15, 18, 19, 20, 21).

4.3. Karbontetraklorür İntoksikasyonu

Köpeklerde toksinler, ilaçlar ve kimyasal maddeler gibi çoğu ajanın karaciğer hasarına yol açtığı ve bu hasarın hafif bir dejenerasyon ile lipidozisten karaciğer nekrozuna kadar değiştiği bildirilmiştir (8, 13, 22, 23).

Karbontetraklorür (CCL₄) doymamış halojenli hidrokarbonlar grubundan olup veteriner hekimlikte antiparaziter olarak kullanılmaktadır. CCL₄'ün yüksek dozda bir defa uygulanması akut sentrilobüler nekroza yol açarken, tekrarlanan düşük dozda uygulanması karaciğer hasarına, hepatik hücrelerin dejenerasyonuna ve fibrosisin ilerlemesi ile hücre rejenerasyonunun inhibe edilmesi neticesinde karaciğer sirozuyla sonuçlanmaktadır (24, 25). Karaciğer hasarının şiddetinin CCL₄'ün dozajına bağlı olarak arttığı bildirilmektedir (26, 27).

CCL₄ karaciğer mikrozomlarında ilaç metabolizması enzimleri tarafından meydana getirilen trichloromethyl carbon (CCL₃), triklorasetikasit ve trikloretilanol gibi primer radikallere dönüşmektedir (24, 25, 28). Bu primer radikaller lipid dienil, lipid oksiradikal, lipidperoksiradikal ve triklorometilperoksi radikali içeren sekonder radikallerin oluşumu için ilk aşamayı teşkil ederek lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir (29, 30, 31).

CCL₄ bu özelliğinden dolayı birçok araştırmacı tarafından hayvanlarda akut ve kronik karaciğer hasarı oluşturmak için kullanılmıştır (32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40).

4.4. Karaciğer Hastalıklarında Tanı Yöntemleri

4.4.1. Klinik muayene ve semptomlar

Karaciğerin klinik muayenesi organın anatomik yerleşimi nedeniyle sınırlı olup, sadece hepatomegali sözkonusu olursa palpasyon ve perküsyon bulguları önem arz etmektedir. Hepatomegali normalde keskin olan kaudal kenarın, kostal kemerin dışına taşması ve kalınlaşarak kütleşmesiyle palpe edilebilir ve perküsyon alanının genişlemesiyle belirlenebilir. Karaciğer hastalıklarının tanısında klinik semptomlar spesifik olmayıp karaciğerdeki lezyonlar belirli bir sınırı aştıktan sonra ortaya çıkar ve gözlenen semptomlar hasarın ileri derecede olduğunu gösterir (12, 20).

Çeşitli araştırmacılar hepatobilyer hastalıkların semptomları olarak iştah azalması, anoreksi, kilo kaybı, verim düşüklüğü, ataksi, kramplar, gelişme geriliği, depresyon, halsizlik, kusma, ishal, melena, polidipsi, poliüri, asites, ikterus, karaciğer büyümesi ve

Veteriner Hekimliğin uygulama alanına son yıllarda giren ultrasonografi abdominal organ hastalıkları ve özellikle hepatobilier sistem hastalıklarının değerlendirilmesinde önemli bir tanı usulü olarak güvenle kullanılmaktadır. Ultrasonografik muayenede organın pozisyonu, büyüklüğü, şekli, dış konturları, eko yapısı, fokal veya diffuz lezyonlar ve vasküler yapılar değerlendirilmektedir. Karaciğer hastalıklarında ultrasonografide karaciğerde bir ekojenite artışı, daha az belirgin vasküler odaklar, hepatik arterlerde 1cm'ye kadar genişlemeler ve karaciğerin büyümüş olduğu bildirilmiştir (45, 46, 47).

4.4.3. Radiografi

Karaciğerin büyüklük ve görünüşünün saptanmasında kullanılan tekniklerden biride radiografik muayenedir. Radiografinin diagnostik doğruluğu sınırlı olup karaciğerde şiddetli hastalık tablosu olduğu zaman dahi normal gözükebilir. Radiografik muayene ile köpeklerde karaciğer büyüklüğündeki azalma ve hepatomegali teşhisi konabilir. Azalan karaciğer büyüklüğü daha ziyade sirozlu ve konjenital portosistemik şanlı köpeklerde gözükmektedir. Karaciğer tümörlerinin radiografik olarak teşhis edilmesi nadirdir (10, 12, 20).

4.4.4. Anjiografi

Anjiografi köpeklerde konjenital vasküler anomali (portosistemik şant) lerin teşhisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (12).

4.4.5. Skintigrafi

Nükleer karaciğer skintigrafisi, neoplasi ve portosistemik şant teşhisinde kullanılmakla birlikte radyoaktif maddelerin gerekmesinden dolayı bu tekniğin kullanılması araştırma kurumlarıyla sınırlıdır (12).

4.4.6. Laboratuvar testleri

4.4.6.1. Hematolojik testler

Karaciğer hastalıklarında eritrosit, lökosit, trombosit, pıhtılaşma faktörleri, hemoglobin ve hematokrit değerlerinde değişim olabileceği bildirilmiştir (14, 22, 42, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54).

4.4.6.2. Biyokimyasal testler

4.4.6.2.1. Hepatoselüler hasarın serum göstergeleri

Hepatoselüler hasar, sitozolik enzimlerin ekstraselüler sıvı içine (serum) sızmasına yol açan hücre membran permeabilitesinde değişiklikle sonuçlanır. Hepatoselüler hasarın en önemli serum göstergeleri aminotransferazlardır. Aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) 'ın serum aktivitesi hepatosit nekrozunun duyarlı bir belirleyicisi olup bilhassa hepatitis gibi akut hepatoselüler hasarın teşhisinde yararlı olduğu bildirilmiştir (15, 54). AST'ın en yüksek doku konsantrasyonları karaciğer, kalp kasları, böbrek, beyin, pankreas, akciğerler, lökositler ve eritrositlerde mevcuttur ve AST hepatositlerin hem stoplazma hem de mitokondrilerinde bulunmaktadır. ALT'ın en yüksek doku konsantrasyonları karaciğerde tespit edilirken daha düşük konsantrasyonlar kalpte mevcuttur ve ALT hepatositlerin daha ziyade stoplazmalarında bulunmaktadır. Hepatoselüler hasarın serum göstergesi olarak ALT, AST'dan daha spesifik olup serum ALT değerleri karaciğer hastalıklarında serum AST değerlerinden daha büyüktür. Serumdaki yüksek ALT'ın karaciğer hastalıklarının histolojik bulguları ile uyum içinde olduğu ve teşhiste önemli bir erken tanı yöntemi olduğu bildirilmektedir (55, 56, 57, 58). Serumdaki yüksek AST ve ALT'ın nedenleri arasında; akut ve kronik hepatitis, siroz, CCL₄ veya fungal phalloidine bağlı hepatotoksikozis, kolangitis, kolangiohepatitis, akut pankreatitis, toksik karaciğer nekrozu, akut kalp yetmezliği, metastatik karsinom, travma ve cerrahi girişimlerden sonra ve bazı ilaçlar sayılabilir (41, 55, 56, 58).

Hepatoselüler hasarın tespitinde kullanılan diğer enzimler Laktat dehidrogenaz (LDH), Arginaz (ARG), Gamma glutamil transferaz (GGT), Glutamat dehidrogenaz (GLDH), Sorbitol dehidrogenaz (SDH) ve Ornitil karbamil transferaz (OCT) dir (33, 56, 59, 60, 61).

4.4.6.2.2. Kolestazisin serum göstergeleri

Kolestazisin önemli bir serum göstergesi olan alkalen fosfataz (ALP) normal olarak karaciğer, kemik, intestinal sistem (ince barsak), sublingual bez, pankreas, böbrek korteksi, plasenta, süt veren meme bezleri ve lökositlerde bulunmaktadır. ALP karaciğerde hepatosit plasm membranında, stoplazma ve safra kanalcıkları membranların dış yüzeyinde mevcuttur. 8 haftalıktan 7 aya kadar olan köpeklerde serum ALP aktivitesi kemik

aktivitesine bağı olarak yüksektir, fakat yaşın ilerlemesiyle aktivite azalmaktadır. Kemik hastalığı bulunmadığı saptanan köpeklerde artan ALP nin kaynağı karaciğerdir (19, 55). Serum ALP aktivitesinde önemli artışlara yol açan hepatoobilier hastalıklar; kolestazis, steroid hepatopati, akut ve kronik hepatitis, hepatik nekroz, primer bilier siroz, karaciğer sirozu, tıkanma sarılığı ve primer hepatoselüler karsinom olarak bildirilmektedir (55, 56, 58, 62).

Mikrozomal fraksiyonda (endoplazmik retikulum) bulunan ve kolestazisin önemli serum göstergelerinden biri olan GGT başlıca karaciğer, böbrek, pankreas ve barsaklarda bulunmaktadır. GGT aktivitesi kolestazis, steroid hepatopati, siroz, hepatik nekroz, akut ve kronik hepatitis, yağlı karaciğer, kolangitis, kolelithiasis, metastatik karaciğer karsinomu ve konjestif kalp yetmezliğinde yükselmektedir (16, 19, 58, 63).

Birçok araştırmacı tarafından (15, 19, 32, 54) serum ALP ve GGT aktivitelerindeki artışın kolestatik bozuklukları gösterdiği, bu bozukluklarda ALP ve GGT aktivitelerindeki artışın AST ve ALT aktivitelerindeki artıştan önemli derecede daha yüksek olduğu ve ALP aktivitesindeki artışın GGT aktivitesindeki artıştan daha büyük olduğu bildirilmiştir.

Ayrıca kolestazisin tanısında Löysin aminopeptidaz (LAP) ve 5-Nükleotidaz (5'-N) aktivitelerinde kullanılabileceği bildirilmektedir (63, 64).

Terletskaia (64) karaciğer ve bilier sistem hastalıklarında 5'-N ve ALP'in serum aktivitelerinin diagnostik önemini değerlendirmiş ve kolelitik bozuklukların % 80-85'inde yüksek 5'-N ve ALP aktivitesi görüldüğünü, serum AST ve ALT ile birlikte değerlendirildiğinde karaciğer ve safra kanalı bozukluklarının differensiyel tanısında önemli olduğunu bildirmiştir.

4.4.6.2.3. Diğer biyokimyasal testler

Safra kesesinden duodenuma gelen konjuge safra asitleri enterohepatik dolaşıma (safra asitlerinin reabsorbsiyonu, karaciğer tarafından alınması ve yeniden ekskresyonu) tabi tutulur. Karaciğer hastalıklarında safra asitlerinin enterohepatik dolaşımının bozulduğu, safra asitlerinin sistemik dolaşıma geçtiği, serumdaki açlık ve tokluk safra asitlerinin önemli düzeyde yükseldiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (43, 65, 66, 67, 68, 69).

Turgut ve Ark. (66) CCL₄ ile karaciğer hasarı oluşturdukları köpeklerde 10 gün boyunca total protein (TP), albümin (ALB), total ve direkt bilirubin (TBR, DBR), ALT, ALP, açlık ve tokluk safra asitleri (ASA, TSA) konsantrasyonlarını ölçmüşler ve karaciğer

hasarının değerlendirilmesinde ASA ile TSA'nin ALT ve ALP'dan daha spesifik olduğunu bildirmişlerdir.

Center ve Ark. (67) hepatobilyer bozukluklu 170 köpeğin ASA, TSA, TBR, ALB, AST, ALT ve ALP aktivitelerini duyarlılık, spesifiklik, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer gibi dört belirleyici ile incelemişler ve hepatobilyer hastalık teşhisi için ASA'nin 20 mmol/L ve TSA'nin 25 mmol/L üzerindeki değerlerde %100 spesifiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca karaciğer hastalıklarının teşhisi için en duyarlı test kombinasyonlarını; siroz, portosistemik şant, glukokortikoid hepatopati için ASA-TSA, kolestazis için ASA-TSA veya ASA-ALP, kronik hepatitis için ASA- TSA veya ALT-AST, hepatik nekroz ve pasif konjesyon için ASA-ALT ve neoplasia için ASA-ALP olarak beyan etmişler ve sonuç olarak bütün hastalıklar için en duyarlı test kombinasyonlarını ASA-TSA veya bunlardan biriyle kombine edilen AST, ALT, ALP enzim aktivitesi olduğunu bildirmişlerdir.

Birçok çalışmada karaciğer hastalıklarında ASA, TSA, AST, ALT, ALP ve GGT aktivitelerinin önemli derecede yükseldiği, karaciğer spesifikliği açısından ASA ve TSA'nin hepsinden daha büyük duyarlılık gösterdiği, köpeklerde karaciğer bozukluğunun tanısında rutin karaciğer testleri (özellikle ALT) ile ASA ve TSA'nin en iyi test kombinasyonu olduğu bildirilmiştir (66, 67, 70, 71, 72, 73).

Noonan (32, 60) 0.5 ml / kg ile oluşturduğu akut karaciğer toksikasyonunda plazma AST, ALT, ALP, GGT, ARG ve SDH aktivitelerini incelediği çalışmasında CCL₄ uygulamasından sonra enzim aktivitelerinin tamamının önemli derecede yükseldiğini, ALT ve ALP hariç diğerlerinin 3-23 günde normal değerlere döndüğünü, köpeklerde hepatoselüler ve hepatobilyer bozuklukların ayırımında plazma GGT 'in önemli olduğunu bildirmiştir.

Fujiwara ve Ark. (48) CCL₄ ve dimetil nitrozamin (DMNA) ile oluşturdukları akut karaciğer hasarında protrombin zamanı ile ALT düzeylerini ölçmüşler ve karaciğer hasarının değerlendirilmesinde artan ALT aktivitesiyle, protrombin zamanının önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Aminlari (33) oral CCL₄ vererek akut hepatik nekroz oluşturduğu köpeklerde AST, ALT, ARG ve rodanaz'ın serum konsantrasyonlarını incelemiş ve karaciğer hasarının 6.-12. saatinde serum ARG aktivitesinin artarak 48. saatte pik değere ulaştığını, AST ve ALT'nin şiddetle yükseldiğini, ALT'ın 10 günden fazla yüksek olarak kaldığını ve rodanaz

aktivitesinin ise değişmediğini, bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde serum ARG'nin AST ve ALT ile birleştirildiğinde karaciğer nekrozunun aşamalarının tesbitinde önemli olabileceğini bildirmiştir.

Litchfield ve Gartland (74) CCL₄'ün 0,2 ml/kg oral tek bir dozajının verilmesiyle ALT ve OCT aktivitelerinin arttığını, AST ve ALP aktiviteleri ile sulphobromophthalein (BSP) retensiyonunun değişmediğini, 0,05 ml/kg/gün tekrarlanan dozajlarda ALT ve OCT aktivitesi kontrol değerlerinin 10-30 katına yükseldiğini ve uzun süren toksikolojik çalışmalarda ALT ve OCT'in artan değerleriyle histolojik değişiklikler arasında pozitif korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir.

Birçok araştırıcı CCL₄ ile oluşturulan akut karaciğer toksikasyonlarında serum AST, ALT, ALP, GGT, SDH, OCT ve bilirubin konsantrasyonlarının arttığını ve artışın karaciğer hasarının şiddeti ile doğru orantılı olduğunu bildirmektedir (26, 32, 33, 48, 52, 60, 74, 75).

Mwanza ve Ark. (54) köpeklerde DMNA ile oluşturdukları kronik karaciğer toksikasyonunda serum ALP, AST, ALT, GGT ve ASA değerlerinin önemli derecede yükseldiğini, serum TP ile albümin / globülin oranının tedricen azaldığını, serum AST ve ALT seviyelerindeki artışın hepatik paraneşim hücre hasarını, GGT ve ALP aktivitelerindeki artışın ise bilier sistemin disfonksiyonunu gösterdiğini bildirmişlerdir.

Allis ve Ark. (27) 20 ve 40 mg/kg CCL₄ dozajını 12 hafta süreyle haftanın 5 günü uyguladıkları ratlarda hepatotoksisitenin serum göstergeleri olan ALT, AST ve LDH'in her iki dozaj grubunda da yükseldiğini, ALP ve kolesterolün sadece yüksek dozaj grubunda arttığını ve bu artışların histolojik olarak hepatoselüler hasar tarafından doğrulandığını bildirmişlerdir.

Cynober ve Ark. (76) intraperitoneal olarak 10 hafta süreyle haftada üç kez 0.2-0.4 ml/kg CCL₄ dozajı verilen ratlarda plasma AST, ALT, LDH, GGT, ALP, TBR, amonyak, kreatin kinaz ve kolesterol değerlerini iyi ve kötü fiziki kondüsyonlu ratlarda araştırmışlar ve plasma AST, ALT, GGT ve TBR değerlerinin iki siroz grubunda da yükseldiğini fakat ammoniemia ve ALP konsantrasyonlarının kötü fiziki kondisyonlu ratlarda önemli derecede daha yüksek olduğu ifade etmişlerdir.

Keller (58) köpeklerdeki enzim aktiviteleri ve dokusal dağılımını incelediği çalışmasında CCL₄ verilen köpeklerde plasma ALT'in hepatoselüler hasara en çok duyarlı ve etkili reaksiyon gösterdiğini bunu SDH, AST, GLDH'in takip ettiğini daha düşük derecede LDH, hidroksi bütirat dehidrogenaz (HBDH) ve ALP'in izlediğini bildirmiştir.

Dashti ve Ark. (31) Thioacetemide ve CCL₄ vererek oluşturdıkları karaciğer sirozunda plasma AST ve ALT aktiviteleri ile çinko ve bakır konsantrasyonlarını araştırmışlar ve sirozlu hayvanlarda plasma AST, ALT aktivitelerinin önemli derecede arttığını buna mukabil plasma bakır ve çinko konsantrasyonlarının önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir.

Kronik karaciğer hastalıklarında serum AST, ALT, ALP ve TBR aktivitelerinin arttığı (31, 42, 77), bakır ve çinko konsantrasyonlarının azaldığı (31), karaciğer dokusu bakır konsantrasyonunun arttığı (42, 57), serum immunoglobulin konsantrasyonlarının artmasına rağmen istatistiki olarak önem arzetmediği (77) ve artan hepatik hasarla enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir (42, 77).

Lum ve Ark. (63) karaciğer hastalıklarında serum GGT, ALP, AST ve LAP aktivitelerini incelemişler ve GGT'in hepatik bozukluklarda ALP ve LAP'dan daha duyarlı olduğunu, obstruktif bozukluklarda en yüksek değerlere ulaştığını, AST ve ALT ile kıyaslandığında nispeten daha yüksek duyarlılık gösterdiğini, sirozda GGT ve ALP aktivitesinin arttığını, AST'in orta derecede anormallik gösterdiğini ve ALT'in normal olduğunu bildirmişlerdir.

Aguilera ve Ark. (59) akut CCL₄ toksikasyonunda plasma safra asitleri, LDH, HBDH ve BSP retensiyonunun saptanmasının hepatik hasarın önemli bir göstergesi olduğunu buna karşın LDH'da artış olmasına rağmen rutin klinikal kullanım için pratik bir test olmadığını bildirmişlerdir.

Bunch ve Ark. (78) köpeklerde antikonvülsan ilaç uygulamasından sonra karaciğer hasarına bağlı olarak serum AST, ALT, ALP ve GGT aktivitelerinde orta derecede bir yükselme ile serum safra asitleri konsantrasyonlarının yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Köpeklerde karaciğer lezyonlarının araştırılmasında serum transaminaz, glutamik, isositrik ve sorbitol dehidrogenaz, LDH, OCT ve fruktoz-1.6 difosfat aldolaz aktiviteleri ile serüloplasmin konsantrasyonlarının klinik tanıda önemli olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (15, 79, 80, 81).

Abdelkader ve Hauge (82) karaciğer bozukluğu bulunan köpeklerde serum enzimleri GLDH, SDH, 5'-N ve kolin esteraz (CHE)'i AST, ALT, ALP, GGT ve albüminle karşılaştırdıkları çalışmada GLDH'in karaciğer hücre nekrozu derecelerini iyi gösterdiğini ve en duyarlı (%92) enzim olduğunu, duyarlılıkta buna yakın AST ve ALP olduğunu, SDH'in ALT ile ilişkili ancak düşük duyarlılıkta olduğunu (% 43), 5'-N'in hepatobilier ve

hepatoselüler bozukluklar arasında ALP ve GGT'dan daha iyi ayırım yaptığını, CHE'in düşük duyarlılığa sahip olduğunu ve albüminle ilişkili olmadığını ve sonuç itibarıyla köpeklerde sadece CHE'in diagnostik öneme sahip olmadığını bildirmişlerdir.

Montanari ve Ricci (83) galaktosaminin 400 mg/kg dozuyla oluşturdukları karaciğer hasarında ALT, AST, ALP, LDH ve GLDH aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında en büyük artışın ALT aktivitesinde olduğunu, AST, LDH ve GLDH aktivitelerinde arttığını bildirmişlerdir.

Wolfgang ve Ark. (84) bir lipid regülatörünün (PD 138142-15) hepatik toksisitesini tespit etmek için yaptıkları çalışmada bu regülatörün 30 mg/kg ve yukarı dozajlarda serum albümin konsantrasyonunun azaldığını, 10 mg/kg ve üzerinde ALP aktivitesinin 30 kat, 5'-N aktivitesinin 9 kat arttığını buna karşın AST ve ALT'in yalnız 100 mg/kg da yükseldiğini bildirmişlerdir.

Antelmentik ilaçlarla oluşturulan akut hepatik nekrozda serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinin yükseldiği, hiperbilirubinemi, hypofibrinogenemi, hypokalemi, hyperglisemi olduğu, tam kan sayımı, serum Na ve Cl konsantrasyonları ile amilaz aktivitesinin normal sınırlar içinde olduğu buna karşın pıhtılaşma süresinin uzadığını bildirilmiştir (13, 49).

İto ve Takaoka (85) karaciğer bozukluklu hastalarda serum AST, ALT ve guanaz aktivitelerinin önemli derecede yükseldiğini ve serum guanaz aktivitesinin saptanmasının karaciğer hasarının tespitinde önemli bir test olabileceğini bildirmişlerdir.

Lohss ve ark. (61) köpeklerdeki karaciğer bozukluğunda OCT, 5'-N, LAP'ın diagnostik yararını incelemişler ve OCT'in primer karaciğer bozukluğu olgularında oldukça duyarlı olduğunu, sekonder olgularda ise ALT ve GLDH'dan daha az duyarlı olduğunu, 5'-N'in ALP ve GGT'dan önemli bir avantajı olmadığını, LAP'ın hiçbir olguda artış göstermediğini bu nedenle köpeklerde dikkate alınmayacağını, OCT'in karaciğer hücrelerinde lokalizasyonunun farklılığı yüzünden ALT, ALP ve GLDH'ın yerini alamayacağını ancak az derecede onların diagnostik öneminin desteklenmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Dayrell Hart ve Ark. (41) 18 köpekte phenobarbital toksikasyonunda serum ALT, ALP, TBR, ASA ve TSA aktivitelerinin yükseldiğini, ALT aktivitesindeki artışın ALP aktivitesindeki artıştan daha büyük oranda olduğunu ve bunun karaciğer toksikasyonlarının tanısında yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.

Strombeck (86) hepatoselüler karsinomalı 8 köpekte ALT, ALP aktiviteleri ile plasma albümin, globülin, kan glukoz ve BSP retensiyonunu baz alarak yaptıkları incelemede serum ALP ve ALT 'ın köpeklerin tamamında, plasma bilirubin seviyesinin 8 köpeğin 2'sinde, plasma globülin seviyesinin 6 köpeğin 5'inde, BSP retensiyonunun 3 köpeğin 1'inde, kan glukoz seviyesinin 8 köpeğin 3'ünde arttığını ve plasma albümin konsantrasyonunun 5 köpekte azaldığını bildirmiştir.

Chapman ve Hendrich (14) granümatöz hepatitisi köpeklerde serum ALP, ALT, safra asitleri konsantrasyonu, BSP retensiyonunun arttığını ve protrombin ile parsiyel tromboplastin zamanının normal olduğunu bildirmişlerdir.

Manderino ve De vires (21) köpeklerde hepatik ensefalopatinin tanısında karaciğer biyopsisi, idrar analizleri, koagulasyon profili, serum amonyak profili ve amonyak tolerans testi, serum safra asiti ölçümü, BSP ve indocyanine yeşil retensiyon testleri ile radyografinin kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

4.4.6.3. Histopatoloji

İntoksikasyonların çoğunda karaciğer diğer dokulara oranla daha fazla etkilenmektedir. Toksinlerin büyük bir bölümü hepatotoksik özelliktedir (13, 31, 49, 52, 54). Bunun nedeni; bu substansların ekskrete edilebilir metabolitlere çevrilmesi sırasında karaciğerin bunları intermedier reaktif radikallere dönüştürmesidir. Bu reaktif radikaller orijinal substansın çok daha fazla toksik özellikte olur. Alınan madde düşük toksisitede olduğu zaman dahi karaciğerde oluşan kısa ömürlü toksik metabolitler yalnızca onu oluşturan hücre stoplazmasında yıkımlanmaya yol açar, diğer dokular fazla etkilenmez. Özellikle CCL₄ zehirlenmesinde görülen bu tip karaciğer zedelenmeleri bilhassa periasiner bölgede şekillenir, çünkü bu kısımlarda biyotransformasyonlar için gerekli mikrozomal çok amaçlı oksidaz yoğunluğu fazladır (24, 25, 59). Akut karaciğer zedelenmesinde oluşan histolojik değişiklikler tek hücre nekrozu, koagulasyon nekrozu, zonal nekrozlar ve masif hemorajik yıkımlanma şeklinde olur, ancak çoğunlukla şiddetli periasiner nekroz görülür. Nadir olarak nekroz şekli periportal yada midzonal olur. Hayvan metabolik durumu ile ilişkili olarak nekroz bölgelerinin çevresindeki hepatositlerde şiddetli hidropik ve yağ dejenerasyonlarına rastlanır (8, 87). Kronik hepatotoksikasyonlarda daha spesifik lezyonlar şekillenir. Bu lezyonlar nekrobiozis, fibrozis, safra kanalı hiperplazisi, nodüler rejenerasyon

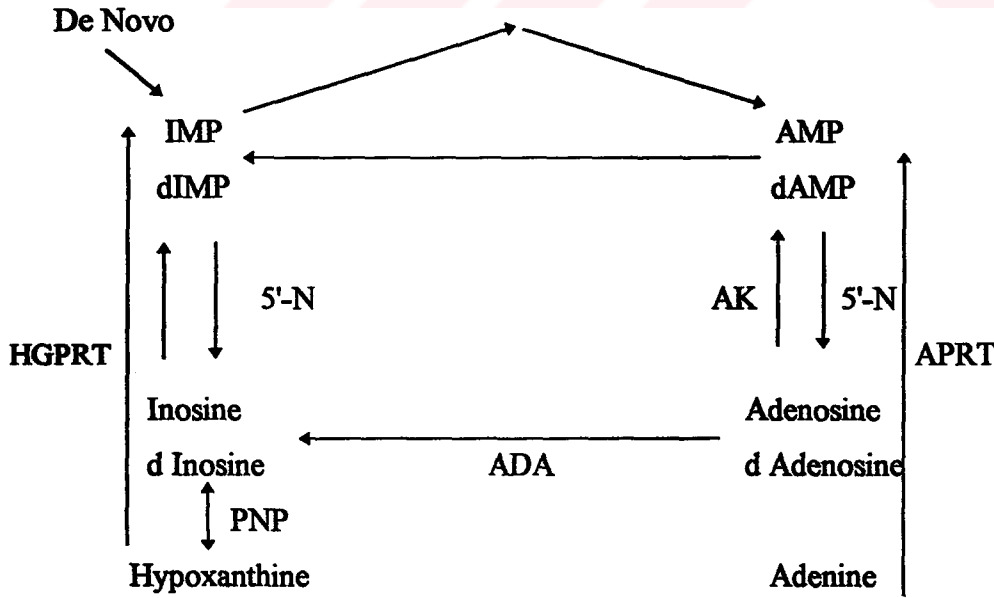
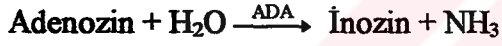
ve safra stazıdır. Ayrıca çoğu intoksikasyonlarda hepatositlerde megalositozis görülür. Kronik intoksikasyonlar en son sirozla sonuçlanır (77, 88, 89, 90).

4.5. Adenozin Deaminaz (ADA)

4.5.1. ADA'nın tanımı ve işlevi

Pürin nükleotid metabolizmasının indirgenmesinde anahtar enzimlerden biri olan adenozin deaminaz, adenozin ve deoksiadenozinin inozin ile deoksiinozine irreversible hidrolitik deaminasyonunu katalize eden bir aminohidrolazdır (91, 92, 93, 94, 95). Bu pürin metabolizmasının bir parçası gibi adenozin ve deoksiadenozin metabolizmasında esansiyel bir basamaktır ve bu nükleotidlerin tekrar kullanılmasına imkan vermektedir. Adenozin ya ADA tarafından inozine veya adenozin kinaz (AK) tarafından adenozin mono fosfata (AMP) katalize edilir. AMP 'ta ya 5'-N tarafından adenozine veya AMP deaminaz tarafından deamine edilerek inozin monofosfata (IMP) dönüşmektedir (96, 97, 98).

ADA'nın esas biyolojik fonksiyonu; lenfositlerde immun fonksiyonların azalmasına yol açan adenozin, deoksiadenozin, deoksiadenozin trifosfat (dATP) ve deoksiadenozin difosfat'ın (dADP) toksik etkilerinden lenfositleri korumaktır (94, 99).



Şekil 1. Pürin Metabolizması Yolu. 5'-N = 5'-Nükleotidaz, ADA = Adenozin Deaminaz, PNP = Pürin Nükleotid Fosforilaz, AK = Adenozin Kinaz, APRT = Adenin Fosforiboziltransferaz, HGPRT = Hipoksantin Guanin Fosforiboziltransferaz. IMP = İnozin Monofosfat, dIMP = Deoksiinozin Monofosfat, AMP = Adenozin Monofosfat, dAMP = Deoksiadenozin Monofosfat.

4.5.2. Adenozin deaminazın izoenzimleri

ADA'nın izoenzimleri ve moleküler kütleleri ile ilgili ilk bilgilerden P.F.Ma ve J.E.Fisher bahsetmiş ve tavuk karaciğerinden saflaştırdıkları enzimin iki ayrı formu bulunduğunu molekül ağırlığı büyük olana (110.000 mol.wt) large, küçük olanına (30.000 mol. wt) small adını vermişlerdir (100).

Martinez ve Ark. (92) sığır iskelet kasında ADA'ı inceledikleri çalışmalarında daha önce 200.000 (Tip A), 100.000 (Tip-B) ve 35.000 (Tip-C) moleküler ağırlığında ADA'nın üç formunun saptandığını kendilerinde sığır iskelet kasında ADA'nın A ve C formlarına tekabül eden 180.000 ve 31.000 molekül ağırlıklı iki formunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Rotonero (101) buzağı timusunda ADA'nın multiple formlarını incelemiş ve timusda ADA'nın 1x10(6), 310.000 ve 55.000 moleküler ağırlığında üç formu olduğunu saptamıştır.

Tanabe (102) hayvan doku ve serumlarında ADA ve ADA 2 izoenzimi aktivitelerini incelediği çalışmasında inek ve ratlarda serumda ADA 2 olmadığını; köpek, kedi ve domuzlarda ADA 2'nin serum düzeylerinin önemsiz olmasına karşın at serumunda ADA 2'nin baskın olduğunu bildirmişlerdir.

İnsanlarda farklı moleküler ağırlıklı, kinetik özellikli ve doku dağılımlı 35 kDa moleküler ağırlığında ADA 1, 280 kDa moleküler ağırlığında ADA 1+CP (iki ADA molekülünün birleşimi), 110 kDa moleküler ağırlığında ADA 2 olmak üzere üç ADA izoenziminin olduğu ve serumda enzimin ADA 1+CP ve ADA 2 formlarının bulunduğu bildirilmiştir (103, 104).

İnsan serumunda ADA'nın üç farklı moleküler ağırlığa sahip monomerik 35 kDa enzimi, bir nonenzimatik 200 kDa'nın dimerik glikoproteinle kombine 35 kDa katalitik ünitelerini ihtiva eden 280 kDa enzimi ve 100 kDa enzimi olduğu, bunlardan 35 ve 280 kDa enzimlerinin aynı gen bölgesi tarafından şifrelendiği ve bu nedenle bunların ADA 1 olarak

adlandırıldığı, 100 kDa'nın ise ADA 2 olarak adlandırıldığı ve farklı gen bölgesi tarafından şifrelenmiş olup kinetik-immunokimyasal özelliklerinin farklı olduğunu bildirilmiştir (105).

Ratech ve Ark. (106) insan ve kanatlılarda ADA izoenzimlerini karşılaştırmalı olarak inceledikleri çalışmalarında tavuk karaciğerinde 35.000 ve 100.000 dalton ağırlığında iki izoenzim tespit etmişler ve 100.000 dalton ağırlığındaki ADA izoenziminin memeli dokularında da mevcut olduğunu beyan etmişlerdir.

Cynthis ve Pang Fai (107) ADA'nın formlarını farklı organizmalarda karşılaştırmalı olarak çalışmışlar ve ADA'nın A (200.000), B (100.000) ve C (34.000) olmak üzere üç formu olduğunu ve memeli dokularında B formunun daha yüksek olup A ile C formlarının benzer olduğu kanaatine vardıklarını bildirmişlerdir.

Stahl ve Frick (108) dokularda ADA izoenzimlerinin 35.000, 280.000 ve 100.000 moleküler ağırlıklarında olduğunu, eritrositer ADA'nın moleküler ağırlıklarının 33.000-47.000 arasında değiştiğini ve serumda 35.000, 100.000 ve 140.000 moleküler ağırlıklarında üç formunun bulunduğunu bildirmişlerdir.

Namiot ve Ark. (109) insanlarda ADA 'nın 36.000-38.000 moleküler ağırlığında S ve 298.000 moleküler ağırlığında L olmak üzere iki formu olduğunu, L formunun iki molekül S formu ile ADA kompleks protein olarak adlandırılan bir glikoproteinden oluştuğunu ve iki S formunun bağlanması enzim aktivitelerini azaltabileceğini bildirmişlerdir.

4.5.3. Adenozin deaminazın fiziksel ve kimyasal özellikleri

Adenozin deaminazla ilgili yapılan çalışmalarda enzimin pH aralığı genellikle 6-8 arasında verilirken bazı araştırmacılar ADA için pH aralığının 6-11 arasında olduğunu ve inaktivasyonunun pH 11'de gerçekleştiğini bildirmişlerdir (110, 111, 112, 113).

Gakis (114, 115) ADA 1 izoenzimi için optimal pH'nın 7-7.5 ve adenozin ile 2'-deoksiadenozin için benzer uygunlukta olduğunu ancak ADA 2 için optimal pH'nın 6.5 ve 2'-deoksiadenozin için zayıf affinite de olup 2'-deoksiadenozinin deaminasyonunda ADA 2'yi etkisiz kıldığı bildirmiştir.

Ungerer ve Ark. (103) serum ADA izoenzimleri ve diagnostik uygulama isimli çalışmalarında enzimin 25 °C de en az 24 saat, 4 °C'de en az 7 gün ve -20 °C'de en az 3 ay için serum ADA aktivitesinin değişmediğini saptamışlardır.

Stahl ve Frick (108) yapmış oldukları çalışmada kan örneklerini +20, +4, -20 ve -50 °C'de 2-42 gün arası muhafazadan önce ve sonra incelemişler ve enzimin aktivite kaybının

24 saatte 24 °C'de % 12.4, +4 °C'de % 8.2, -20 °C'de % 3.1 ve -50 °C'de % 0.6 olduğunu, -50 °C'de 15 gün muhafazada % 8 ve 30 gün muhafazada % 13.3 olduğunu tesbit etmişlerdir.

Martinez ve Ark. (92) ADA'nın 70 °C'nin üzerindeki ısılarda inaktivasyonunun şekillendiğini yapmış oldukları çalışmada saptamışlardır.

4.5.4. Adenozin deaminazın inhibitörleri

Agarwal ve Ark. (116) insan eritrositlerinde inozin, 2'-deoksiinozin, guanozin, 2'-fluoroadenozin, 2'-fluorodeoksiadenozin, N⁶-metiladenozin, N⁷-metiladenozin, N⁷-metilinozin, N⁷-metilguanozin, 6-tioguanozin, 6-tiiozin, 6-metiltiiozin, arabinozil 6-tiopürin, tübersidin, toyokamisın, dipirimadol ve koformisinin ADA'nın inhibitörleri olduğunu bildirmişlerdir.

Stahl ve Frick (108) ADA inhibitörlerini inceledikleri araştırmada dana barsak ve eritrosit ADA'nı inhibe eden adenozin analoglarının bazılarının kompetitif, bazılarında nonkompetitif inhibisyon yaptığını, kompetitif olanların 2-deoksikoformisin (DCF), eritro-9-2 hidroksi 3 nonil adenin (EHNA), 1-dezoadenozin ve N⁶-metil deoksiadenozin, nonkompetitif olanın 8-azoguanine olduğunu ayrıca sodyum borat veya barbitol sodyum ile çinko tuzlarında inhibe edici etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

DCF'in ADA'nın potansiyel bir inhibitörü olduğu ve DCF'in lenfoid dokunun involusyonu, lenfositopeni, trombositopeni, farelerde T hücre blastogenezinde azalma, derinin allograf kabulünün uzaması, timusta lenfoid azalması ve gıda tüketiminin azalmasına yol açtığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (94, 95, 117, 118).

Tedde ve ark. (119) deoksikoformisinin sürekli intraperitoneal infüzyonuyla immun disfonksiyon için hayvan modeli oluşturduklarını ve DCF'in infüzyonundan sonra timus, dalak ve lenf nodüllerindeki ADA aktivitesinin % 57'den % 100'e varan farklı derecelerde inhibe edildiğini tespit etmişlerdir.

Koformisin ve isokoformisinin ADA'nın inhibitörü olduğu fakat isokoformisinin koformisinden daha zayıf bir inhibisyon gösterdiğini çünkü ADA enzimi ile koformisinin bağlanması irreversibl olurken isokoformisinin inhibisyonunun kompetitif olduğu bildirilmiştir (120, 121).

ADA'nın EHNA tarafından inhibe edildiği ve ADA 2 izoenziminin ADA 1 izoenzimine göre EHNA ile inhibisyona daha fazla dirençli olduğu beyan edilmiştir (105).

Çeşitli araştırmacılar tarafından 5-iodotubersidin ve Theophyllinenin ADA'nın inhibitörü olduğu ve immün cevabı baskılayan bir potansiyel olabileceği bildirilmiştir (110, 122).

4.5.5. Adenozin deaminazın lokalizasyonu ve düzeyleri

ADA insan ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan bir enzim olup hücrelerin stoplazmasında ve çekirdeğinde yer aldığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (123, 124).

Genç rat ve buzağı dokularında ADA'nın timus bezinde kortikal lenfositlerde, lenf nodüllerinin medullar bölgesinde, dalağın kırmızı pulpası, periarteriolar lenfosit kılıfları etrafında, barsakların lamina propriasında, mononükleer blastoid ve plazma hücrelerinde, nonlenfosid organların (böbrek, kalp, akciğer) interstisiyumundaki mononükleer blastoid hücrelerde, bazı arterioller ile kapillarların endotelial hücrelerinde, karaciğerin kupfer hücrelerinde ve buzağuların safra kanalçıklarında olduğu bildirilmiştir (93).

ADA kompleks proteinlerinin tavşanların 4 ekzokrin bezinde lokalize olduğu özellikle pankreasın asiner hücrelerinde ve brunner bezlerinin seröz hücrelerinde (duodenal bezler) nukleus ve hücre apeksindeki granüler çöküntülerde, safra kanalçıkları ve ekzokrin karaciğer komponentlerinde ve submaksillar bezlerde seröz demilunes ile çizgili kanallarda bulunduğu belirtilmiştir (125).

Yasuda ve Ark. (91) normal sığırların farklı dokularında ADA aktivitelerini incelemişler ve dalak, akciğerler ve lenf nodüllerindeki ADA değerlerinin diğer dokulardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Tablo-1).

Tablo 1. Sığır Dokuları ve Serumundaki ADA Aktivitesi

Dokular	Hayvan Sayıları n	Yaş Doku Ekstraktı (ADA)	
		İ.Ü / L	(gr/L)
Dalak	5	186.6±6.12	(179.5-191.1)
Akciğer	5	159.1±2.21	(155.6-161.2)
Lenf Nodülleri	5	154.9±5.48	(147.5-161.2)
Myokard	5	123.4±3.19	(118.9-127.5)
Kas	5	94.8±4.77	(87.3-101.7)
Böbrek	5	85.3±5.85	(76.4-93.7)
Sidik Kesesi	5	77.3±16.49	(53.1-103.2)
Karaciğer	5	15.1±7.27	(8.9-29.0)
Serum	88	3.9±1.9	(0-8.8)

Çeşitli araştırmacılar tarafından ADA'nın farklı hayvan türlerinin beyin, beyincik, beyin stem, kalp, iskelet kası, barsak, akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve testis dokularında mevcut olduğu bildirilmiştir (92, 95).

ADA kompleks proteinlerinin insan dokularında membrana bağlı ve serbest formları şeklinde bulunduğu, prostat, böbrek, barsak, karaciğer, akciğer ve primer deri fibroblastları tarafından salgılandığı bildirilmiştir (127).

Rutkiewicz ve Gorski (128) kaslar arasında ADA aktivitesinin farklılık arzettiğini, myokardiyumdaki ADA aktivitesinin soleusdakinin 2 katı, quadricepsdekini 3.5 katı olduğunu ve bunun kaslardaki farklı fonksiyonlu liflerden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır.

Bremer ve Ark. (129) insan dokularında ADA düzeylerini inceledikleri çalışmada çocukluk döneminde timusdaki ADA düzeyinin en yüksek olduğunu, dalak, lenf nodülleri ve derinin orta düzeyde, serebral korteks, karaciğer ve böbreğin daha düşük düzeylerde ADA içerdiğini bildirmişlerdir.

Tanabe (102) hayvanların serum ve dokularında ADA aktivitesini incelediği çalışmada en yüksek serum ADA düzeyinin kedilerde bulunduğunu, tavşanların orta seviyede aktiviteye sahip olduğunu, köpek, inek, domuz, at ve ratlarda nispeten düşük seviyede olduğunu bildirmiştir. Yine kedi ve köpeklerin serum ADA seviyelerinde cinsiyet ve yaş açısından önemli bir farklılık olmadığını ve ADA aktivitesinin çoğu türlerde dalak, lenf nodülleri ve timusda yüksek düzeyde, beyin, böbreküstü bezi, kaslar, böbrek ve karaciğerde nispeten düşük seviyede olduğunu bildirmiştir.

Stahl ve Frick (108) ADA'nın normalde bütün hücrelerde mevcut olduğunu ancak barsak, dalak, karaciğer, akciğer ve böbrek hücrelerinin ADA açısından zengin olduğunu, kandaki enzimatik aktivitenin eritrositlerde, lenfositlerde, plazmada veya serumda ortaya çıkarılabileceğini; eritrositer aktivitenin total kanda % 91.4, plazmada % 8.6 ve serumda % 8.2 olduğunu, serum ADA değerlerinin, plazma ADA değerlerinden hafifçe yüksek olmasına rağmen önemli bir fark olmadığını, arteriyel kan ADA değerlerinin venöz kan değerlerinden biraz daha yüksek olmasına rağmen farkın önemli olmadığını ve ADA değerlerinin erkeklerde kadınlardan biraz daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

ADA aktivitesinin memelilerde en yüksek düzeyde lenfoid dokularda bulunduğu (özellikle timusta), ADA aktivitesindeki farklılığın T hücrelerinin farklılaşmasının farklı aşamalarıyla ilişkili olduğu, olgunlaşmamış kortikal timositlerde ADA aktivitesinin daha

yüksek düzeyde bulunurken daha düşük seviyelerin kemik iliği timositlerinde ve periferik kan T hücrelerinde bulunduğu, bursal lenfositlerdeki ADA aktivitesinin timositlerden daha yüksek olduğu ve timusun gelişmesi esnasında ADA aktivitesi hemen hemen sabit kalırken bursal gelişim esnasında değiştiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (94, 95).

Serum ADA izoenzimleri ve kökenleri üzerinde yapılan çeşitli araştırmalarda en büyük ADA aktivitesinin lenfosit ve monositlerde mevcut olup diğer dokularda tespit edilenin 10 katı olduğu, monositlerde ADA 1 ve ADA 1 + CP'in bulunmadığı doku örneklerinde bulunduğu, ADA 2'nin monosit ve makrofajların asıl enzimi olduğu, serumun başlıca ADA 2 içerdiği bununda ya ADA 2'nin aktif olarak monositler tarafından salgılanmasına ve serumdaki ADA 2'nin ömrünün ADA 1'inkinden uzun olabileceğine veya serumdaki ADA 1'in eksikliğinin fazla miktarda CP'in varlığına bağlanabileceği tarafından bildirilmiştir (93, 103, 130).

Eritrositer ve lökositler ADA düzeyleri üzerinde yapılan çalışmalarda ADA'nın eritrosit, lenfosit ve serebral kortekste bulunan bir enzim olup köpeklerde lökosit ADA düzeylerinin 2.07 mmol / saat / mg protein olduğu ve vücut sıvılarındaki ADA aktivitesinin esas itibarıyla lenfositlerin sayısı, olgunlaşması ve uyarılma düzeyiyle alakalı olduğu bildirilmiştir (131, 132).

Sığırların serum ve doku hemojenatlarındaki ADA aktiviteleri üzerinde yapılan çalışmalarda normal sığırların serum ADA aktivitesinin 5.4 ± 2.6 İ.Ü / L olup insanlardakinden düşük olduğu, erkek ve dişi hayvanlar arasında önemli bir fark olmadığı buna karşın gebe olmayan hayvanlarda gebelere göre serum ADA aktivitesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (133, 134).

Jagueti ve Ark. (135) gebe olan ve olmayan kadınlar üzerinde gebeliği 3 aylık 3 döneme ayırarak yaptıkları çalışmada gebe bireylerde serum ADA konsantrasyonlarının gebe olmayanlara göre önemli derecede düştüğünü fakat gebeliğin dönemleri arasında önemli bir fark olmadığını ve gebelikte hücrel immunitenin deprese edildiğini bu sebeple serum ADA konsantrasyonunun gebelikteki hücrel immunitenin baskılanmasının bir belirleyicisi olabileceği sonucuna varmışlardır.

gelişmediği, sayılarının azaldığı ve immun yetmezlik meydana geldiği bildirilmiştir (95, 137).

Magnuson ve Ark. (138) SCID'lı (şiddetli kombine immun yetmezlik) at fibroblastlarında dATP konsantrasyonunun normale göre iki kat daha fazla olduğunu bunun ya deoksiadenozinin transportu veya fosforilasyonunda ya da dATP'nin kullanımındaki bir hatayı gösterebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Tedde ve Ark. (119) spesifik bir ADA inhibitörü olan DCF'in intraperitoneal olarak aralıksız verilmesiyle B ve T hücrelerinin her ikisinin immun yetmezliğinin invivo fare modeli meydana getirdiklerini ve DCF'in infüzyonundan sonra timus, dalak ve lenf nodüllerindeki ADA aktivitesinin % 57- % 100 arasındaki derecelerde inhibe edildiğini bildirmişlerdir

Birçok araştırmacı ADA aktivitesi ile immun dış fonksiyon arasındaki ilişkiyi incelemiş ve enzim eksikliğinin özellikle T lenfositlerinin proliferasyon ve farklılaşmasının inhibe edilmesiyle alakalı olduğu bilhassa hücrel immunitedeki bozuklukları yüksek oranda gösterdiğini beyan etmiştir (120, 131, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148).

Ungerer ve ark. (103) serum ADA, ALT, LDH enzimlerinin hepatitis, infeksiyöz mononükleozis, tüberkülozis, pneumoni, romatoid artrit ve akut lenfoblastik lösemide arttığını ve serum ADA, ALT ve LDH değerleri arasında korelasyon olmamasına rağmen ALT ile LDH değerleri arasında korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Gakis ve Ark. (114, 115) insanlarda serumdaki yüksek ADA aktivitesinin salmonellozis, brusellozis, akut toksoplazmozis, viseral leishmaniozis, riketsiozis, hepatitis A ve B, chicken pox, mononükleozis ve tümörün göstergesi olduğunu, pleural, peritoneal ve perikardial effüzyonlardaki yüksek ADA aktivitesinin tüberküloz, malignansi ve empiyemin,

serebrospinal sıvıdaki yüksek ADA aktivitesinin tüberküloz meningitisin göstergesi olduğunu ancak ADA'nın bariz bir diagnostik ilişkiye sahip olması için normal değerlerin en az 2.5 katı olması gerektiğini bildirmişlerdir.

Kurata (130) ADA'nın serum konsantrasyonunun lösemi, akut karaciğer harabiyeti, multiple myeloma (B-J tipleri), infeksiyöz mononükleozis, kızamıkçık, kronik karaciğer hastalıkları ve tüberkülozlu hastalarda yükseldiğini ve bu bozuklukların daha iyi değerlendirilmesinde ADA 1 ve ADA 2 izoenzimlerinin ayrı olarak değerlendirilmesi gerektiğini, ADA 2 deki yükselmelerin T hücrelerin uyarılmasından kaynaklanırken ADA 1'in başlıca hasarlı doku veya hücrelerden geldiğinin sanıldığını bildirmiştir.

Yasuda ve Ark. (91) normal sığırlardaki serum ADA değerlerinden (3.9 ± 30.1 İ.Ü) löykozlulardaki serum ADA aktivitesinin (22.8 ± 30.1 İ.Ü) önemli derecede yüksek olduğunu ve sığır löykozunun erken tanısında yararlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Koizomi ve Ark. (96) mycosis fungoidesli hastalarda hastalığın farklı dönemlerindeki ADA değerlerini 15 hastanın serumunda ölçmüşler ve enzim aktivitesinin kontrollere göre yükseldiğini, serumdaki ADA aktivitesinin dönemlerin ilerlemesiyle daha da yükseldiğini saptamışlar ve serum ADA aktivitesinin mycosis fungoidesde tümörün ilerlemesinin göstergesi olabileceği kanaatine varmışlardır.

Namiot ve Ark. (109) mide kanserinde ADA aktivitesini inceledikleri çalışmalarında gastrik kanserli hastaların mide içeriğindeki ADA aktivitesinin midenin benign lezyonlu bozukluklarından önemli derecede yüksek olduğunu, enzim aktivitesindeki önemli derecede bir farklılığın intestinal ve diffuz tip gastrik kanser arasında mevcut olup intestinal tipin diffuz tipten daha düşük ADA aktivitesiyle karakterize olduğunu bildirmişlerdir.

Jackson ve Ark. (149) rat hepatoma ve böbrek tümörlerinde ADA, AK aktivitesini incelemişler ve büyüme oranı hızlı hepatomalarda ADA aktivitesinin normale göre 2-4 kat yükselirken AK aktivitesinin azaldığı ve bu durumun kanser hücreleri üzerinde seçici bir yarar verebileceği kanaatine varmışlardır.

Kanser olgularında ADA aktivitesinin yükseldiği ve ADA izoenzimlerinin lösemilerin ayırıcı sınıflandırılmasında önemli olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (91, 104, 150, 151).

Toxoplazmozis, akciğer tüberkülozu ve sistemik löpus eritematozuslu hastalarda serum ADA aktivitesinin sağlıklı bireylere oranla önemli derecede yükseldiği ve bu

hastalıkların teşhis ve prognozunda bir parametre olabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (152, 153, 154).

Ungerer ve Ark. (155) salmonellozda serum ADA, AST, ALT, LDH ve GGT aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında serum ADA aktivitesinin diğer enzimlerden daha yüksek derecede arttığını, serum ADA'nın ölçümünün diagnostik duyarlılığı % 71 iken serolojik testlerinkinin % 68 olduğunu ve serolojik olarak pozitif hastaların % 95'inde serum ADA aktivitesinin yükseldiğini saptamışlar ve salmonellozlu hastalarda serum ADA aktivitelerinin ölçümünün hastalığın teşhis ve şiddetinin değerlendirilmesinde yardımcı olabileceği kanaatine varmışlardır.

Orriols ve Ark. (156) psittakozise bağlı pleural effuzyonda ADA aktivitesini inceledikleri çalışmalarında ADA, ALP, GGT, AST, ALT, tam kan sayımı ve kan bilirubin değerlerini incelemiş ADA, ALP ve GGT aktivitelerinin arttığını, tam kan sayımı, transaminaz ve kan bilirubin değerlerinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Hirschberger ve Koch (157) infeksiyöz serozitis, bakteriyel veya feline infeksiyöz peritonitisli (FIP) kedilerin vücut effuzyonlarındaki (thorasik ve abdominal) ADA aktivitesinin diğer vakalardan çok önemli derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Diviredi ve Ark. (158) Tüberküloz asitesin tanısında asites sıvısı ADA aktivitesinin 33 İ.Ü/L nin üzerinde diagnostik doğruluğunun (%100), spesifikliğin (%95), duyarlılığının (%96.6), pozitif tahmini değerin (%100) ve negatif tahmini değerin (%98) olduğunu saptadıklarını ve bu yüzden tüberküloz asitesli hastalarda ADA aktivitesinin tesbitinin erken teşhise yardım ettiğini bildirmişlerdir.

Bhargava ve Ark. (159) peritoneal tüberkülozda asites sıvısı ve serum ADA aktivitesinin diagnostik önemini karşılaştırmalı olarak incelemişler ve 36 Ü/L nin üzerindeki asites sıvısı ADA değerleri ile 54 Ü/L nin üzerindeki serum ADA aktivitesinin anormal olduğu, tüberkülozlu hastalarda periferik kan ve asites sıvısı lenfosit sayılarının bariz olarak yükseldiği, asites sıvısı ADA aktivitesinin tüberkülozun teşhisinde serum ADA aktivitesinden diagnostik açıdan daha iyi olduğunu ve lenfosit sayıları ile ADA aktivitesi arasında korelasyon olmadığını bildirmişlerdir.

Hillebrand ve Ark. (132) tüberküloz peritonitisin teşhisinde asites ADA aktivitesinin saptanmasının % 93.8 doğrulukta olduğunu ve ADA aktivitesi, AFTP (asites sıvı total protein), WBC sayısı, PMN sayısı, PMN olmayan WBC sayısı ve RBC sayısı arasında önemli korelasyon olmadığını saptamışlardır.

Tüberküloz peritonitisin teşhisinde asites sıvısı ADA aktivitesinin yükselmesinin erken teşhiste önemli olduğu ve tüberküloz peritonitis için % 100 duyarlılık ile % 94.1 spesifiktir olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (160, 161).

Rodriguez ve Gonzalez (162) churra türü kuzularda enzootik musküler distrofinin yolaçtığı değişiklikleri incelediği çalışmasında distrofik kuzularda kreatin kinaz, AMP ve ADP deaminazın daha düşük olduğu ve ADA'nın arttığını bildirmişlerdir.

Safkan atlarda purin nükleotid metabolizması enzim aktivitesine çalışmanın etkisi guluteal kasların ortalarından alınan biyopsi örneklerinde incelenmiş ve AK, ADA ve AMP deaminaz aktivitesinin çalışma esnasında arttığı, 5'-N aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (163).

Nishikawa ve Ark. (104) Gravesli hastalarda serum ADA aktivitesinin normal bireylerden önemli derecede yüksek olduğunu beyan etmişlerdir.

Hepatopati köpeklerde, FIP'li kedilerde ve lökozlu ineklerde serum ADA aktivitesinin sağlıklı hayvanlardan yüksek olduğu bildirilmiştir (102, 133, 157).

Mejer ve Remicke (50) siroz, asbestozis, kontakt dermatitis ve kronik renal yetmezlikte lenfositlerdeki ADA aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir.

Zuck ve Rotzsch (124) karaciğerdeki yangı olayları ile ADA aktiviteleri arasında sıkı bir ilişki bulunduğunu akut viral hepatitis, aktif siroz, akut hücre nekrozu, CCL₄ zehirlenmeleri ve karaciğer tümörlerinde serum ADA değerlerinin önemli derecede yükseldiğini ve bu sebepten ADA'nın karaciğer hastalıklarının erken tanısında hücre hasarı parametrelerine ilave bir parametre olarak kabul gördüğünü bildirmişlerdir.

Serum ADA aktivitesinin akut hepatitis, karaciğer sirozu, karaciğer tümörü olgularında arttığı, iltihabi karaciğer bozukluklarında iltihabi olmayanlara göre daha çok artış gösterdiği ve serum ADA aktivitesinin saptanmasının karaciğerin iltihabi reaksiyonları ile sirozun teşhisinde önemli olduğu bildirilmiştir (164).

Rodriguez ve Ark. (165) akut viral hepatitis, karaciğer sirozu, karaciğer neoplazması ve kolelithiasisli hastalarda serum ADA düzeylerini inceledikleri çalışmalarında kolelithiasisli hastalar hariç diğerlerinde önemli derecede yükseldiğini ve en yüksek ADA düzeyinin karaciğer sirozu ve viral hepatitide olduğunu bildirmişlerdir.

Goldberg ve Ark. (166) portal sirozda serum aminotransferaz, ADA ve immunglobulin düzeylerinin yükseldiğini ve bu yükselen değerlerin portal sirozun göstergesi olduğunu bildirmişlerdir.

Chikuma (133) 135 sağlıklı ve 128 farklı hastalık bulunan sığırdan serum ADA aktivitesini ölçtüğü çalışmada serum ADA düzeyinin karaciğer bozukluğu ve lökosit bulunan sığırlarda önemli derecede yükseldiğini ve karaciğer bozukluklarındaki fibrosis derecesi ve dejenerasyonun histopatolojik bulguları ile ADA aktivitesi arasında ilişki olmamasına rağmen mononükleer hücre infiltrasyonunun artması ile serum ADA aktivitesinin bariz şekilde yükseldiğini tesbit ettiklerini bunun da sığır karaciğer bozukluklarında serum ADA aktivitesinin yükselmesinin mononükleer hücre infiltrasyonu sonucu olduğunu gösterdiğini bildirmiştir.

Karaciğer sirozu bulunan hastalarda serum ADA düzeylerinin kontrollerden önemli derecede yüksek olduğu ve serum ADA düzeylerinin hastalarda sirozun tanı ve prognozunda önemli bir index olduğu bildirilmiştir (164, 167).

Stahl ve Frick (108) sirozlu hastalarda kan ADA düzeylerinin yüksek olduğunu ve kan ADA düzeyleri ile hemoglobin ve hematokrit değerleri arasında hiçbir korelasyon olmadığını beyan etmişlerdir.

Muraoka ve Ark.(105) serum ADA aktivitesinin hepatitis, siroz, hepatoselüler karsinom, hepatitis B virus enfeksiyonu, akut ve kronik T hücre lösemili hastalarda yükseldiğini ve ADA izoenzimlerinin tesbitinin akut ve kronik karaciğer bozuklukları ile akut ve kronik lösemisinin ayırımında önemli bir kriter olduğunu ifade etmişlerdir.

Mejer ve Reinicke (50) karaciğer sirozlu hastalarda serum gamma globulin, ALB, AST, pıhtılaşma faktörleri ve lökosit sayıları ile lenfosit ve granülositlerdeki nükleozid metabolizması enzimleri ADA, PNP, APRT, HGPRT, AK, Sitidin deaminaz (CRD), 5'-N 'ı incelemişler ve sirozlu hastalarda serum gamma globulin, ALB, AST, pıhtılaşma faktörleri ile lökosit sayısında önemli bir farklılık olmadığını buna karşılık sirozlu hastaların lenfosit ve granülositlerindeki ADA aktivitesi artarken lenfositlerdeki APRT, HGPRT ve AK aktivitesi ile granülositlerdeki CRD ve 5'-N aktivitesinin azaldığını tesbit etmişlerdir.

Kobayashi ve Ark.(168) çeşitli karaciğer bozukluğu bulunan 200 hastada serum ADA,ALT ve gamma globulin düzeyleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada serum ADA düzeylerinin alkolik hepatik fibrozis, siroz ve hepatomalı hastalarda yüksek olduğunu, yağlı karaciğerde değişmediğini ve farklı karaciğer hastalıklarında ADA izoenzimlerinin farklı olduğunu, serum ADA değerleriyle gamma globulin seviyeleri arasında pozitif korelasyon mevcut iken ALT değerleri arasında olmadığını tesbit etmişlerdir.

Akut hepatitiste serum ADA düzeyindeki artışın kaynağının karaciğer hücreleri olabileceği ve ADA düzeyindeki artışın kaynağının karaciğer hücre nekrozunun şiddetini gösterebileceği, kronik hepatitisi hastalarda serum ADA düzeyindeki artışın ise periferik kan ve karaciğer dokusundaki lenfositlerdeki aktivasyon artışına bağlı olabileceği bildirilmiştir (168).

Ellis (169) karaciğer ve safra sistemi bozukluklarında AST, ALT, ICDH, GLDH, guanaz, ADA, 5'-N ve ALP aktivitelerini incelediği çalışmada AST ve ALT 'in hepatobilyer bozukluklarda yükselmesine rağmen bozukluk kategorilerinin ayrımında faydalı olmadığını ancak AST/ALT oranının bozukluk kategorilerinin ayrımında önemli olduğunu, ICDH, GLDH ve guanaz aktiviteleri farklı bozukluk kategorilerinin ayrımında zayıf olurken yüksek ALP ve 5'-N aktivitelerinden 5'-N' in hepatobilyer bozuklukların ayrımında ALP' dan daha çok duyarlı ve spesifik olduğunu, ALT 'in teşhiste kullanılan 6 testin hepsinden daha iyi diagnostik öneme sahip olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacı serum ADA aktivitesinin ekstrahepatik obstruksiyonlu çoğu hastada normal olurken paraneoplastik hepatik bozukluklu hastaların çoğunda yüksek olduğunu, bu bozuklukların ayrımında önemli olup rutin teşhiste aminotransferazlara ilave olarak önemli olduğunu ve portal sirozda AST hariç diğer enzimlerin hepsinden ADA aktivitesinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

CCL₄ ile oluşturulan akut ve kronik karaciğer lezyonlarında rejenerasyon sürecinde AST, ALT, ALP, ADA ve AMP-aminohidrolaz aktivitelerinin incelendiği çalışmada rejenerasyon sürecinde aminotransferaz aktivitelerinin karaciğer ve kan serumunda azaldığı, ADA, ALP ve AMP-aminohidrolaz aktivitelerinin karakteristik bir artışla sonuçlandığı bildirilmiştir (170).

Hromashevskaya ve Ark.(171) tekrarlanan CCL₄ uygulamaları ile oluşturulan karaciğer sirozu, tıkanma sarılığı ve akut enfeksiyonda ADA, AMP-deaminaz ve glutamiz aktivitesini kontrollerle karşılaştırmalı olarak inceledikleri çalışmalarında siroz ve tıkanma sarılığında karaciğer dokusundaki glutamiz aktivitesi azalırken ADA ve AMP-deaminaz aktivitelerinin şiddetle arttığını ve akut enfeksiyon ile karaciğer sirozunda kan serumundaki ADA ve AMP-deaminaz aktivitelerinin önemli derecede arttığını bildirmişlerdir.

5. MATERİYAL VE METOT

5.1. Materyal

5.1.1. Hayvan materyali

Çalışmanın materyalini 1-6 yaş ve 15-28 kg canlı ağırlığında, her iki cinsten Van ve Yöresinden temin edilen 20 adet sağlıklı melez köpek oluşturdu. Köpekler herbiri 10 köpekten oluşan iki gruba (Akut toksikasyon grubu ve Kronik toksikasyon grubu) ayrıldı. Köpeklere çalışma öncesi antiparaziter olarak niklozamid 125 mg / kg (Şeridif- DİF) ve %1'lik ivermektin 0.2 mg / kg (İvomec-TOPKİM) dozunda uygulandı. Klinik muayene ve laboratuvar tetkik sonuçlarına göre sağlıklı olduğu tesbit edilen köpekler deneme ortamına uyumlarını sağlamak amacıyla 21 gün süreyle Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı bokslarında hospitalize edildi. Hospitalizasyon süresince köpekler ayrı kafeslerde tutularak deneme müddetince türlerine özgü gıdalarla beslendi ve önlerinde daima içme suyu bulunduruldu.

5.1.2. Kullanılan aletler ve kimyasal maddeler

5.1.2.1. Kullanılan aletler

Spektrofotometre	Boehringer Mannheim 5010
Spektrofotometre	PERKIN-ELMER Lambda 1A UV/ VIS
Hassas Terazı	Shömadzu BX-320
pH Metre	ORION SA 720
Kan Sayım Cihazı	Coulter MAXM
Real-time Ultrason Cihazı	Microimager 2000, Ausonics
Su Banyosu	Precitherm PFV
Santrifüj	NÜVE NF 815
Otomatik Pipetler	Socorex
Vacum Desikatör	Shömadzu
Soğutucu	Arçelik
Plastik ve Cam Laboratuvar Malzemeleri	

5.1.2.2. Kimyasal maddeler

Di-Potasyum Hidrojen Fosfat	Merck
Sodyum Hidroksit	Merck
Sodyum Nitroprussid	Merck
Hidroklorik Asit	Merck
Adenozin	Sigma
Fenol USP	Sigma
Sodyum Hipoklorit	Sigma
Amonyum Sülfat	Riedel

5.2. Metot

5.2.1. Klinik muayeneler

Denemeye alınan köpekler toksikasyon öncesi ve süresince sistemik olarak muayene edilerek elde edilen bulgular değerlendirildi (172).

5.2.2. Akut karaciğer toksikasyonunun oluşturulması

Deneme öncesi hazırlıkları tamamlanan 10 köpeğe (Akut toksikasyon grubu) 12 saatlik açlığı takiben bir kez 1,5 ml / kg dozunda karbontetraklorür'ün (Merck) zeytin yağındaki 1/1 oranındaki süspansiyonu oro-gastrik sonda ile mideye verilerek akut toksikasyon oluşturuldu (48).

5.2.3. Kronik karaciğer toksikasyonunun oluşturulması

Deneme öncesi hazırlıkları tamamlanan 10 köpeğe (Kronik toksikasyon grubu) 12 hafta süreyle haftada iki kez 0,5 ml / kg dozundaki karbontetraklorür'ün (Merck) zeytin yağındaki 1/1 oranındaki süspansiyonu oro-gastrik sonda ile mideye verilerek kronik toksikasyon oluşturuldu (25).

5.2.4. Örnekleme zamanları ve örneklerin alınması

Akut toksikasyon grubu köpeklerden toksikasyon öncesi 1. ve 2. günlerde ve toksikasyonun 1.,3.,5.,7 ve 9.günlerinde, kronik toksikasyon grubu köpeklerden toksikasyon öncesi 1. ve 2. günlerde ve toksikasyon süresince 21 gün arayla 4 kez olmak üzere usulüne uygun olarak 10 ml'lik antikoagülsüz ve 5 ml'lik antikoagülanlı (EDTA) tüplere kan örnekleri alındı.

5.2.5. Hematolojik muayeneler

Hematolojik muayeneler için alınan antikoagülanlı kan örneklerinin analizi Coulter MAXM kan sayım cihazı ile yapıldı.

5.2.6. Biyokimyasal muayeneler

5.2.6.1. Serum enzimleri analizi

Antikoagülsüz kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Serum AST (Randox AS-483), ALT (Randox AL-485) ve ALP (Randox AP-502) ticari test kitleri kullanılarak Boehringer Mannheim 5010 spektrofotometrede ölçüldü.

5.2.6.2. ADA standardının hazırlanması

Bir ml'sinde (distile su) 0.3 mg nitrojen olacak şekilde stok standart hazırlandı. Bu stoktan 100 ml 'lik balon jöjeye 20 ml aktarıldı. Üzeri distile su ile 100 ml 'ye tamamlanarak çalışma standardı hazırlandı.

Çalışma standardından ;

12 İÜ ADA için 5 ml alındı ve üzeri distile su ile 25 ml 'ye tamamlandı.

24 İÜ ADA için 10 ml alındı ve üzeri distile su ile 25 ml 'ye tamamlandı.

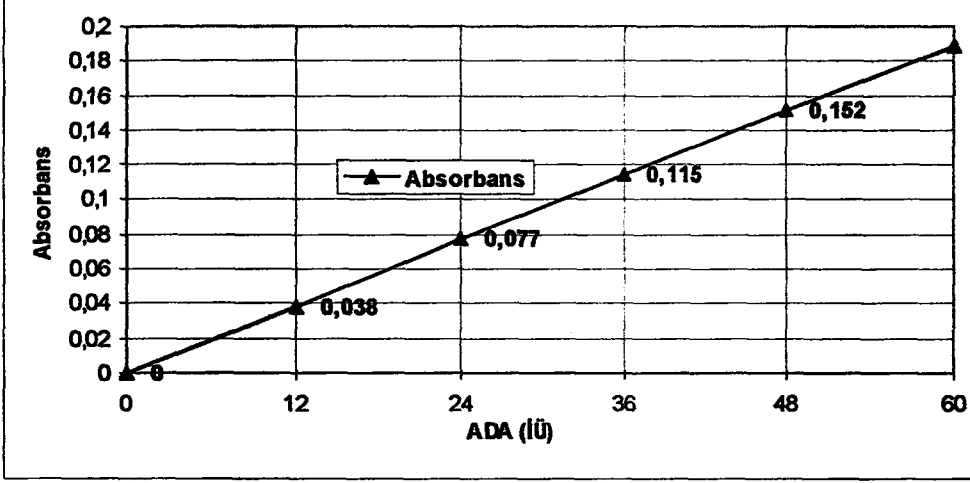
36 İÜ ADA için 15 ml alındı ve üzeri distile su ile 25 ml 'ye tamamlandı.

48 İÜ ADA için 20 ml alındı ve üzeri distile su ile 25 ml 'ye tamamlandı.

60 İÜ ADA için 25 ml alındı.

Çalışmada kullanılan herbir tüpe 0.5 ml Adenozin Buffer Solusyonu alındı ve üzerlerine hazırlanan her standart solusyonundan 0.05 ml ilave edildi. Tüplerin ağızları parafilm ile kapatılarak karıştırıldı ve 37 °C deki su banyosunda 60 dakika inkübasyonda tutuldu. İnkübasyon sonunda bütün tüplere 2.5 ml fenol renk ayırıcı ve 2.5 ml alkali

hipoklorit ayıracı ilave edildi. Tüplerin ağızları parafilm ile kapatılarak karıştırıldı ve tüpler 37 °C deki su banyosunda 15 dakika inkübasyonda tutuldu. Su banyosundan çıkarılan numunelerin absorbansı 640 nm de distile suya karşı okundu.



Şekil 2 : ADA Standart Eğrisi

5.2.6.3. Serum ADA aktivitesinin analizi

Serum ADA aktivitesi modifiye Bertholet reaksiyonu ile Martinek Metoduna (173) göre kolorimetrik olarak tesbit edildi.

Ayırıcılar:

a) Adenozin Buffer Solusyonu (0,675 mM, pH:7,05): 1,74 gr anhidre di-potasyum hidrojen fosfat 60 ml distile suda çözdürüldükten sonra pH'sı 1 N hidroklorik asitle pH metre ile 7,05'e ayarlandı. Adenozin'in 19 mg'ı bu solusyonda çözdürülüp hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Bu solusyon +4 C de saklandı.

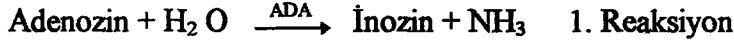
b) Fenol Renk Ayıracı: 5,4 ml sıvı fenol USP ve 25 mg sodyum nitroprussid 500 ml distile suda çözdürüldü. Bu solusyon + 4 C de muhafaza edildi.

c) Alkali Hipoklorit Ayıracı: 62,5 ml 1 N sodyum hidroksit ve 4.2 ml % 5'lik sodyum hipoklorit solusyonları distile su ile 500 ml'ye tamamlandı. Bu solusyon + 4 C de saklandı.

d) Stok Nitrojen Standardı (0,3 mg Nitrojen / ml): Anhidre amonyum sülfat 104 C'de vacum desikatörde desikiye edildi ve soğutuldu. Bunun 0,3539 gr'ı alınarak 250 ml distile suda çözdürüldü.

e) Çalışma Nitrojen Standardı (0,06 mg Nitrojen / ml): 20 ml stok nitrojen standardı distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Bu solusyon oda ısısında muhafaza edildi.

Metodun Prensi: Substart olarak adenzinin kullanılmasıyla açığa çıkan amonyagin alkali ortamda sodyum hipoklorit ve fenol ile reaksiyona girerek koyu mavi renkli indofenol şeklini alması ADA aktivite düzeyi ölçümünün prensibini oluşturdu. Sodyum nitroprussid ikinci reaksiyon için katalizör olarak kullanıldı. Amonyak konsantrasyonunun değişimiyle orantılı olarak indofenol oluşumu da (mavi rengin şiddeti) değişti (174).



Reaksiyon

İşlem: Çalışmada kullanılan tüplerin herbirine 0.5 ml Adenzin Buffer Solusyonu alındı. Daha sonra numune tüpüne 0.05 ml serum, standart tüpüne 0.05 ml çalışma nitrojen standardı, numune körü ve standart körü tüplerine 0.05 ml distile su ilave edildi.

Ayraçlar	Numune (ml)	N . Körü (ml)	Standart (ml)	St. Körü (ml)
Adenzin B.Sol.	0,5	0,5	0,5	0,5
Numune (Serum)	0,05	—	—	—
Ç.Nitrojen St.	—	—	0,05	—
Distile Su	—	0,05	—	0,05

Tüplerin ağızları parafilm ile kapatılarak karıştırıldı ve 37 C deki su banyosunda 60 dakika inkübasyonda tutuldu. İnkübasyon sonunda bütün tüplere 2.5 ml fenol renk ayırıcı ve 2.5 ml alkali hipoklorit ayırıcı ilave edildi.

Fenol Ayırıcı	2,5	2,5	2,5	2,5
Hipoklorit Ayırıcı	2,5	2,5	2,5	2,5

Tüpler 37 °C deki su banyosunda 15 dakika inkübasyondan sonra su banyosundan çıkarılan tüplerin absorbansı 640 nm de distile suya karşı okundu. Oluşan renk 20 dakika sabit kalır.

Hesaplama:

$$\text{ADA Aktivitesi (İ.Ü/L)} : \frac{A_n - A_{nk}}{A_{st} - A_{stk}} \times \text{standart konsantrasyonu}$$

$$\text{ADA Spesifik Aktivite} : \frac{\text{İ.Ü/L}^*}{\text{mg protein} \times 10^3}$$

A_n = Numunenin Absorbansı , A_{nk} = Numune Körünün Absorbansı

A_{st} = Standardın Absorbansı , A_{stk} = Standart Körünün Absorbansı

*Bir ünite ADA aktivitesi 37 °C de 60 dakika süreyle 1 ml serumun amonyum nitrojeninin bir mikrogramının serbest bırakılması olarak tanımlandı (173).

5.2.7. Histopatolojik muayeneler

Akut toksikasyon grubu köpeklerden toksikasyondan sonraki 4. ve 9. günlerde, kronik toksikasyon grubu köpeklerden toksikasyonun 6. ve 12. haftalarında histopatolojik muayeneler için ultrasonografi rehberliğinde karaciğer biyopsisi alındı . Biyopsi materyali % 10 ' luk nötral formalin solusyonunda tesbit edildi. Alınan parçaların parafin blokları hazırlandı ve 4-6 mikron kalınlığında kesitler elde edilip hematoksil-eozin ile boyamaları yapılarak ışık mikroskopunda incelendi.

5.2.8. İstatistiki analizler

Toksik maddenin deneklerde biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine etkilerini araştırmak ve bu etkinin günlere göre değişimini belirlemek için student'in t-testi uygulanmıştır (175).

6. BULGULAR

6.1. Klinik Bulgular

Akut toksikasyon grubu köpeklerde toksik maddenin uygulanmasından sonra iştahsızlık, durgunluk ve sulu defekasyon gibi spesifik olmayan karaciğer toksikasyonu bulguları gözlemlendi ve bu bulgular 3 gün devam etti. Fakat bu bulgular uygulamadan sonraki 3. günden 7. güne kadar giderek azaldı ve 9. günde hiçbir klinik belirti gözlemlenmedi.

Kronik toksikasyon grubu köpeklerin tamamında toksik maddenin artan uygulama sayısı ile ilerleyen bir iştahsızlık, zayıflama, dışkı renginin açılması ve çamurumsu bir kıvam alması, koyu portakal sarısı renginde idrar ve depresyon gözlemlendi. Ayrıca 4 köpekte abdominal palpasyonda ağrı, 2 köpekte hafif derecede ikterus, 2 köpekte polidipsi ve 1 köpekte toksikasyonun ikinci ayında çene altı ödem tesbit edildi.

6.2. Hematolojik Bulgular

Akut toksikasyon grubu köpeklerin deneme öncesi ve süresince belirlenen lökosit, eritrosit, trombosit, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Tablo-2 'de görülmektedir. Akut toksikasyon grubu köpeklerin hematolojik muayenelerinde lökosit, trombosit ve hematokrit düzeylerinde deneme öncesine göre istatistiki olarak önemli bir farklılık olmadığı belirlendi ($P > 0.05$). Fakat eritrosit ve hemoglobin düzeylerinde sadece 3. günde istatistiki olarak önemli artış bulundu ($P < 0.05$).

Tablo-2 : Akut Toksikasyon Grubunda Hematolojik Parametreler

GÜNLER	LÖKOSİT ($\times 10^3 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	ERİTROSİT ($\times 10^6 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	TROMBOSİT ($\times 10^3 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	HEMOGLOBİN (g/dl) X \pm Sx	HEMATOKRİT (%) X \pm Sx
KONTROL	11.38 \pm 0.32	6.63 \pm 0.11	243.7 \pm 10.8	14.18 \pm 0.10	45.80 \pm 0.69
1. GÜN	11.91 \pm 0.16	6.90 \pm 0.12	231.5 \pm 9.1	14.42 \pm 0.11	46.42 \pm 0.60
3. GÜN	11.65 \pm 0.30	7.05 \pm 0.11*	225.2 \pm 6.5	14.55 \pm 0.10*	46.10 \pm 0.71
5. GÜN	11.61 \pm 0.20	6.92 \pm 0.14	220.2 \pm 7.3	14.34 \pm 0.10	46.34 \pm 0.64
7. GÜN	11.15 \pm 0.38	6.40 \pm 0.08	250.8 \pm 6.6	14.28 \pm 0.11	45.67 \pm 0.52
9. GÜN	11.58 \pm 0.23	6.47 \pm 0.07	233.1 \pm 6.5	14.47 \pm 0.09	46.18 \pm 0.91

** $P < 0.05$, n=10

Kronik toksikasyon grubu köpeklerin deneme öncesi ve süresince belirlenen lökosit, eritrosit, trombosit, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Tablo-3 'de görülmektedir. Kronik

6. BULGULAR

6.1. Klinik Bulgular

Akut toksikasyon grubu köpeklerde toksik maddenin uygulanmasından sonra iştahsızlık, durgunluk ve sulu defekasyon gibi spesifik olmayan karaciğer toksikasyonu bulguları gözlemlendi ve bu bulgular 3 gün devam etti. Fakat bu bulgular uygulamadan sonraki 3. günden 7. güne kadar giderek azaldı ve 9. günde hiçbir klinik belirti gözlemlenmedi.

Kronik toksikasyon grubu köpeklerin tamamında toksik maddenin artan uygulama sayısı ile ilerleyen bir iştahsızlık, zayıflama, dışkı renginin açılması ve çamurumsu bir kıvam alması, koyu portakal sarısı renge idrar ve depresyon gözlemlendi. Ayrıca 4 köpekte abdominal palpasyonda ağrı, 2 köpekte hafif derecede ikterus, 2 köpekte polidipsi ve 1 köpekte toksikasyonun ikinci ayında çene altı ödem tesbit edildi.

6.2. Hematolojik Bulgular

Akut toksikasyon grubu köpeklerin deneme öncesi ve süresince belirlenen lökosit, eritrosit, trombosit, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Tablo-2 'de görülmektedir. Akut toksikasyon grubu köpeklerin hematolojik muayenelerinde lökosit, trombosit ve hematokrit düzeylerinde deneme öncesine göre istatistik olarak önemli bir farklılık olmadığı belirlendi ($P > 0.05$). Fakat eritrosit ve hemoglobin düzeylerinde sadece 3. günde istatistik olarak önemli artış bulundu ($P < 0.05$).

Tablo-2 : Akut Toksikasyon Grubunda Hematolojik Parametreler

GÜNLER	LÖKOSİT ($\times 10^3 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	ERİTROSİT ($\times 10^6 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	TROMBOSİT ($\times 10^3 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	HEMOGLOBİN (g/dl) X \pm Sx	HEMATOKRİT (%) X \pm Sx
KONTROL	11.38 \pm 0.32	6.63 \pm 0.11	243.7 \pm 10.8	14.18 \pm 0.10	45.80 \pm 0.69
1. GÜN	11.91 \pm 0.16	6.90 \pm 0.12	231.5 \pm 9.1	14.42 \pm 0.11	46.42 \pm 0.60
3. GÜN	11.65 \pm 0.30	7.05 \pm 0.11*	225.2 \pm 6.5	14.55 \pm 0.10*	46.10 \pm 0.71
5. GÜN	11.61 \pm 0.20	6.92 \pm 0.14	220.2 \pm 7.3	14.34 \pm 0.10	46.34 \pm 0.64
7. GÜN	11.15 \pm 0.38	6.40 \pm 0.08	250.8 \pm 6.6	14.28 \pm 0.11	45.67 \pm 0.52
9. GÜN	11.58 \pm 0.23	6.47 \pm 0.07	233.1 \pm 6.5	14.47 \pm 0.09	46.18 \pm 0.91

** $P < 0.05$, n=10

Kronik toksikasyon grubu köpeklerin deneme öncesi ve süresince belirlenen lökosit, eritrosit, trombosit, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Tablo-3 'de görülmektedir. Kronik

toksikasyon grubu köpeklerin hematolojik muayenelerinde eritrosit, trombosit, hemoglobin ve hematokrit düzeylerinde deneme öncesine göre istatistiki olarak önemli bir farklılık olmadığı belirlendi ($P > 0.05$). Fakat lökosit düzeylerinde deneme süresince deneme öncesine göre istatistiki olarak önemli derecede bir artış saptandı ($P < 0.001$).

Tablo-3 : Kronik Toksikasyon Grubunda Hematolojik Parametreler

GÜNLER	LÖKOSİT ($\times 10^3 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	ERİTROSİT ($\times 10^6 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	TROMBOSİT ($\times 10^3 / \text{mm}^3$) X \pm Sx	HEMOGLOBİN (g/dl) X \pm Sx	HEMATOKRİT (%) X \pm Sx
KONTROL	10.82 \pm 0.21	6.52 \pm 0.07	295.1 \pm 10.3	13.56 \pm 0.08	41.25 \pm 0.58
3. HAFTA	11.91 \pm 0.12**	6.60 \pm 0.09	302.7 \pm 5.2	13.81 \pm 0.10	42.47 \pm 0.27
6. HAFTA	12.80 \pm 0.08**	6.56 \pm 0.11	303.2 \pm 7.8	13.61 \pm 0.09	41.15 \pm 0.60
9. HAFTA	12.97 \pm 0.06**	6.47 \pm 0.06	288.8 \pm 7.1	13.50 \pm 0.07	40.85 \pm 0.47
12. HAFTA	13.22 \pm 0.08**	6.77 \pm 0.12	316.9 \pm 10.1	13.55 \pm 0.10	40.98 \pm 0.49

** $P < 0.001$, n=10

6.3. Biyokimyasal Bulgular

Akut toksikasyon grubu köpeklerin deneme öncesi ve süresince (1.,3.,5.,7. ve 9. günler) belirlenen serum AST, ALT, ALP ve ADA aktiviteleri Tablo-4 'de görülmektedir. Deneme süresince deneme öncesine göre serum AST, ALT, ALP ve ADA düzeylerinin önemli derecede arttığı belirlendi ($P < 0.001$). Ancak serum AST düzeyi denemenin 9. gününde istatistiki olarak önem arz etmedi ($P > 0.05$). Deneme süresince serum AST, ALT ve ADA aktiviteleri toksikasyonun 1. gününde en yüksek değere ulaşırken serum ALP aktivitesi 3. günde en yüksek değere ulaştı ve 9. güne doğru tüm enzim aktiviteleri giderek azaldı (Şekil 3,4,5 ve 6).

Tablo-4 : Akut Toksikasyon Grubunda Biyokimyasal Parametreler

GÜNLER	AST (U/L) X \pm Sx	ALT (U/L) X \pm Sx	ALP (U/L) X \pm Sx	ADA (U/L) X \pm Sx
KONTROL	29.86 \pm 1.7	32.57 \pm 1.4	113.0 \pm 4.5	2.34 \pm 0.24
1. GÜN	387.9 \pm 19**	425.4 \pm 14.0**	180.7 \pm 4.0 **	5.41 \pm 0.32 **
3. GÜN	315.4 \pm 13**	321.6 \pm 10.6**	455.2 \pm 6.9 **	5.09 \pm 0.09 **
5. GÜN	175.0 \pm 5.7**	222.5 \pm 7.32**	399.9 \pm 11.0 **	4.83 \pm 0.10 **
7. GÜN	63.14 \pm 3.2**	124.4 \pm 5.0**	311.4 \pm 11.0 **	3.40 \pm 0.15 **
9. GÜN	32.43 \pm 2.0*	68.0 \pm 1.6**	268.5 \pm 6.7 **	2.94 \pm 0.19 **

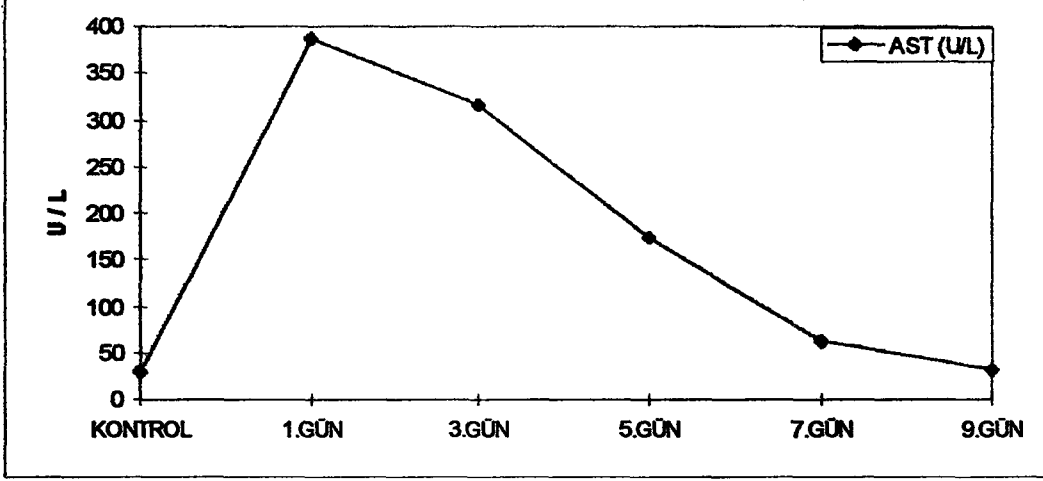
** $P < 0.001$, * $P < 0.05$, n=10

Kronik toksikasyon grubu köpeklerin deneme öncesi ve süresince (3.,6.,9. ve 12. haftalarda) belirlenen Serum AST, ALT, ALP ve ADA aktiviteleri Tablo-5 'de görülmektedir. Deneme süresince serum AST, ALT, ALP ve ADA aktivitelerinin deneme öncesine göre önemli ölçüde arttığı belirlendi ($P < 0.001$). Denemenin 12. haftasında serum enzim aktivitelerinin en yüksek değere ulaştığı saptandı (Şekil 7,8,9 ve 10).

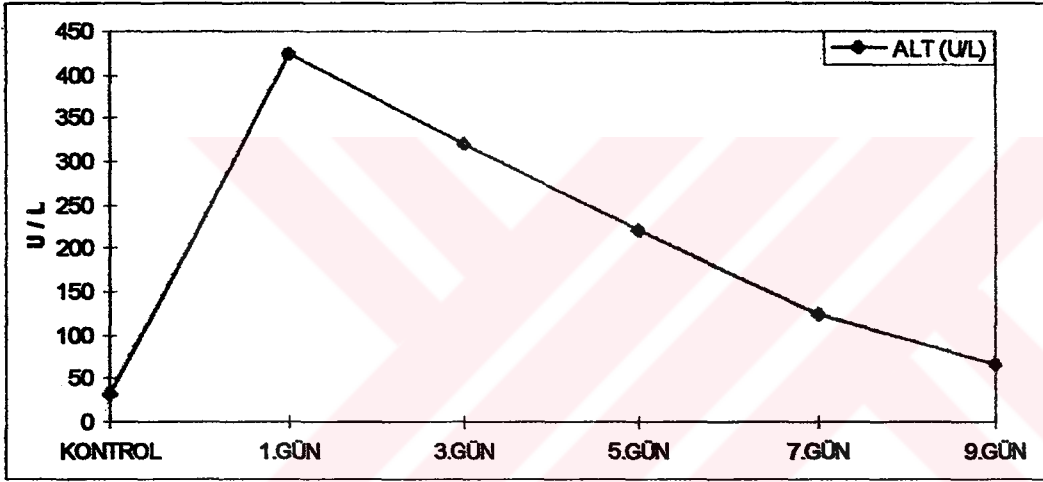
Tablo-5 : Kronik Toksikasyon Grubunda Biyokimyasal Parametreler

GÜNLER	AST (U/L) $X \pm Sx$	ALT (U/L) $X \pm Sx$	ALP (U/L) $X \pm Sx$	ADA (U/L) $X \pm Sx$
KONTROL	37.88 ± 1.0	39.63 ± 1.77	98.87 ± 4.23	2.83 ± 0.20
3. HAFTA	$238.37 \pm 6.55^{**}$	$456.5 \pm 10.0^{**}$	$647.4 \pm 11.7^{**}$	$13.02 \pm 0.20^{**}$
6. HAFTA	$298.30 \pm 11.8^{**}$	$490.9 \pm 11.4^{**}$	$791.75 \pm 9.55^{**}$	$17.56 \pm 0.33^{**}$
9. HAFTA	$320.7 \pm 10.3^{**}$	$575.3 \pm 11.1^{**}$	$952.9 \pm 11.3^{**}$	$22.12 \pm 0.48^{**}$
12. HAFTA	$370.8 \pm 11.9^{**}$	$626.3 \pm 11.0^{**}$	$1093.1 \pm 10.4^{**}$	$24.18 \pm 0.43^{**}$

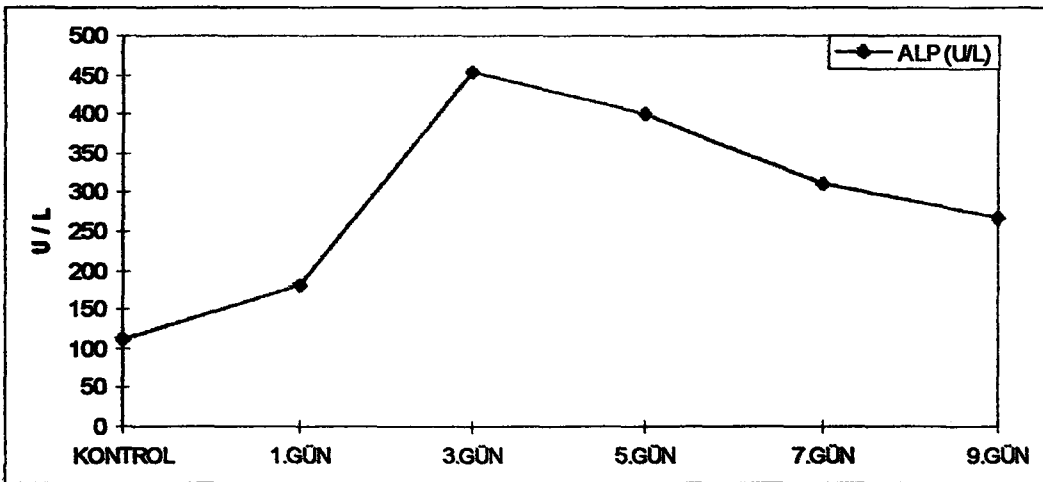
** $P < 0.001$, n=10



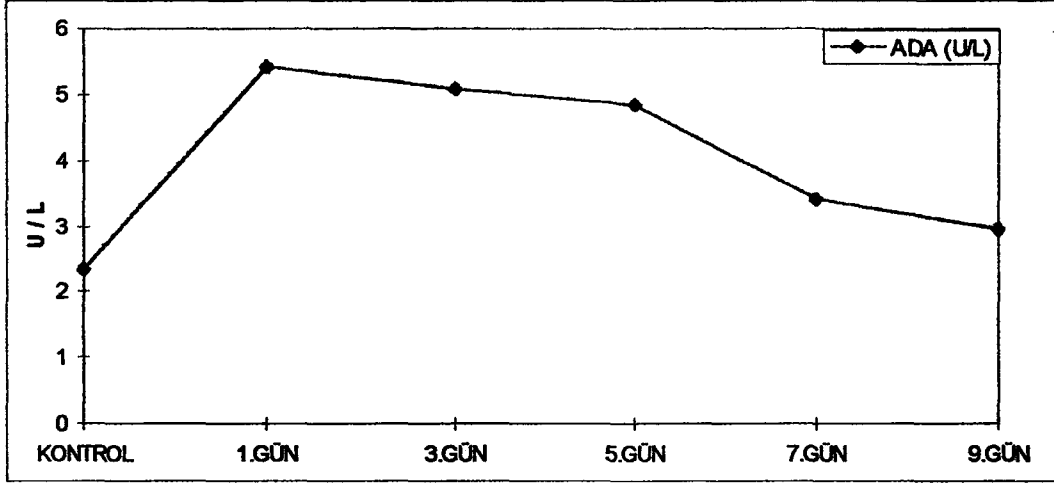
Şekil 3 : Akut toksikasyon grubu köpeklerde serum AST düzeyindeki değişiklikler



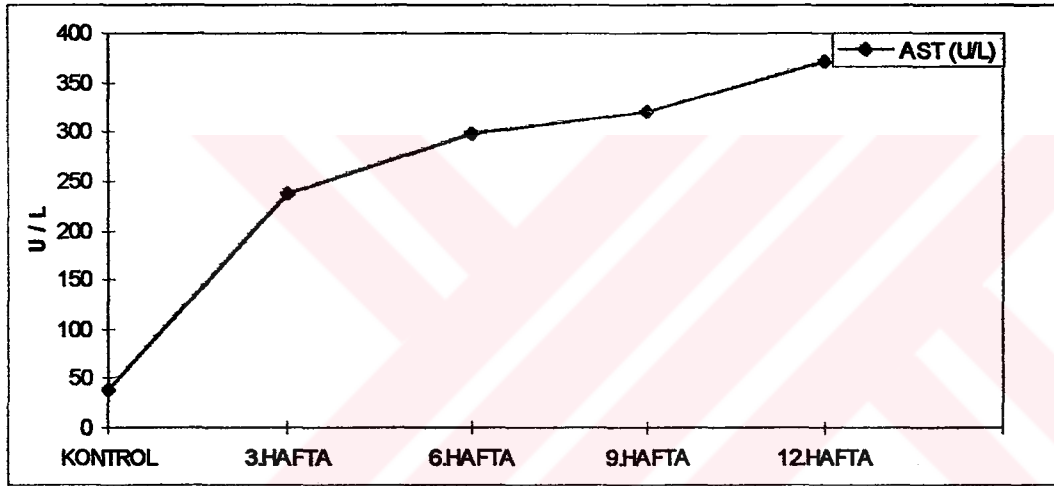
Şekil 4 : Akut toksikasyon grubu köpeklerde serum ALT düzeyindeki değişiklikler



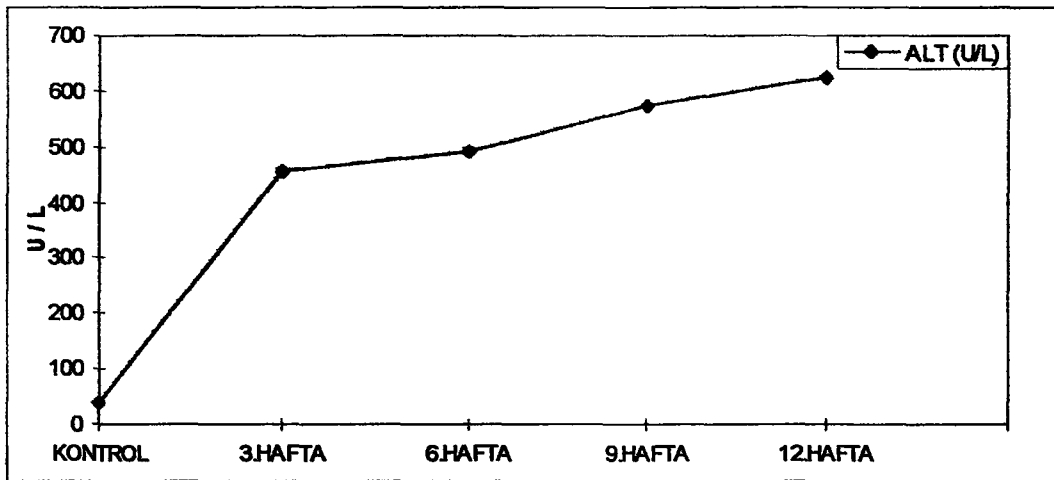
Şekil 5 : Akut toksikasyon grubu köpeklerde serum ALP düzeyindeki değişiklikler



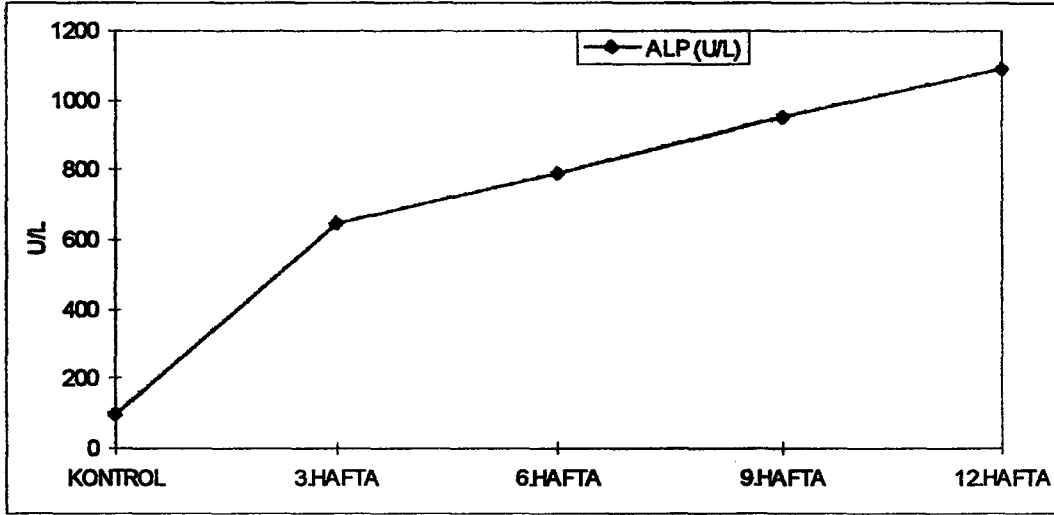
Şekil 6 : Akut toksikasyon grubu köpeklerde serum ADA düzeyindeki değişiklikler



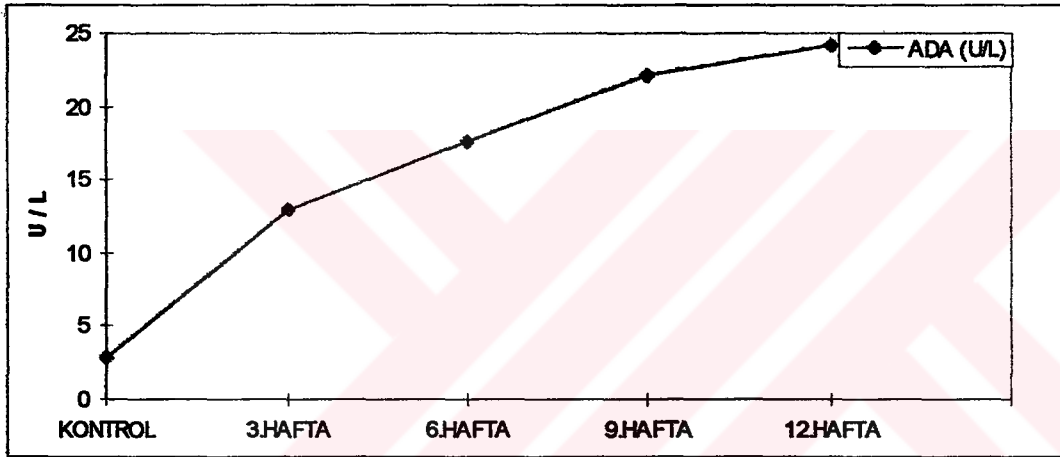
Şekil 7 : Kronik toksikasyon grubu köpeklerde serum AST düzeyindeki değişiklikler



Şekil 8 : Kronik toksikasyon grubu köpeklerde serum ALT düzeyindeki değişiklikler



Şekil 9 : Kronik toksikasyon grubu köpeklerde serum ALP düzeyindeki değişiklikler

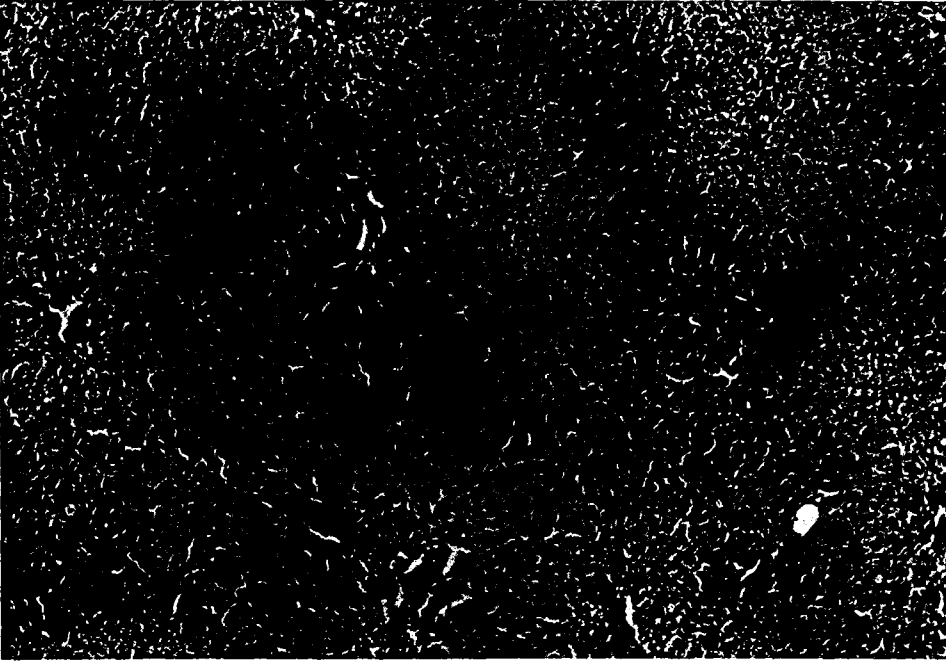


Şekil 10 : Kronik toksikasyon grubu köpeklerde serum ADA düzeyindeki değişiklikler

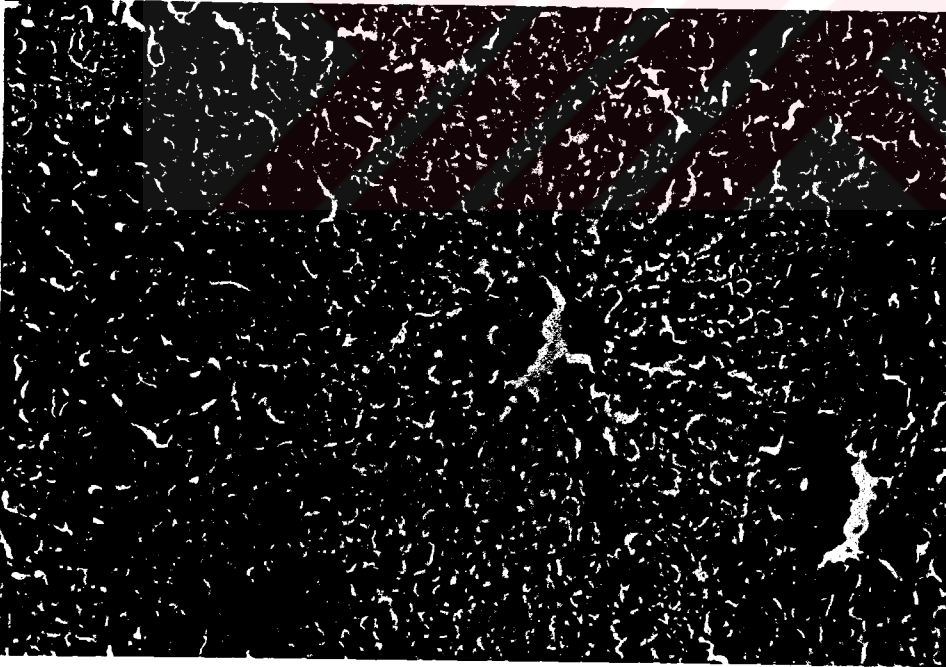
6.4. Histopatolojik Bulgular

Akut toksikasyon grubu köpeklere toksik madde uygulanmasından sonraki 4. ve 9. günlerde alınan doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde özellikle sentrilobuler ve midzonal bölgelerde belirgin olan hepatoselüler hidropik dejenerasyon, nekroz ve remark kordonlarında dissosiasyon görüldü (Resim 1 ve 2).

Kronik toksikasyon grubu köpeklere toksik madde uygulanmasının 6.ve12. haftalarında alınan doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde akut toksikasyon grubu köpeklerde görülen değişikliklere ilave olarak portal bölgelerde ve vena sentralislerin çevresinde bağ doku proliferasyonu (fibrozis) saptandı. Aynı zamanda bu bağ doku proliferasyonunun bu bölgelerden yer yer paranzime doğru uzandığı dikkati çaktı (Resim3 ve 4).



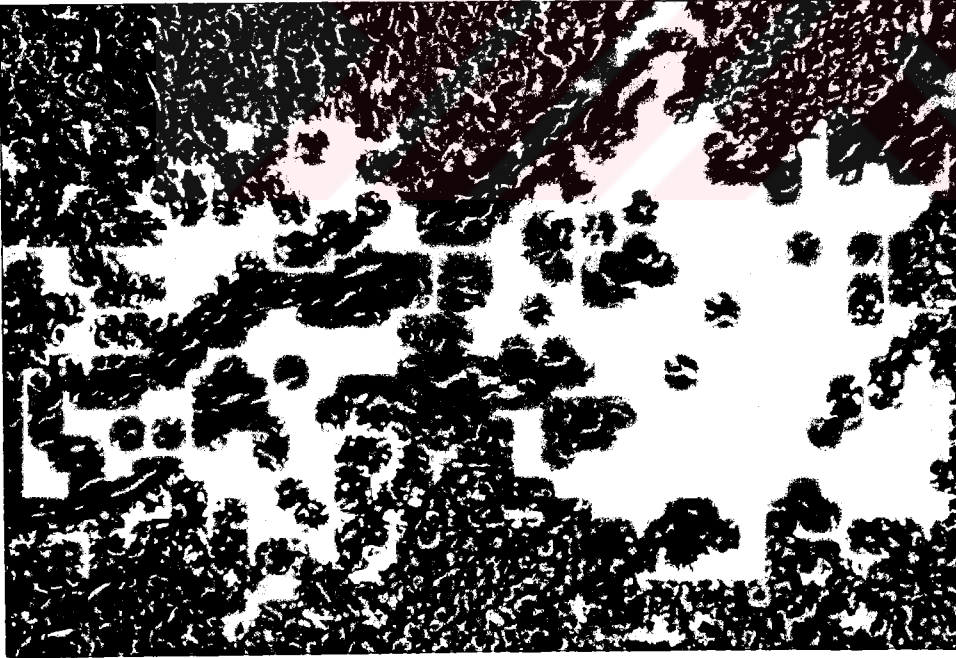
Resim 1. Akut toksikasyon grubu köpeklere ait karaciğer doku örneğinin histopatolojik görünümü (HE x 80)



Resim 2. Akut toksikasyon grubu köpeklere ait karaciğer doku örneğinin histopatolojik görünümü (HE x 200)



Resim 3. Kronik toksikasyon grubu köpeklere ait karaciğer doku örneğinin histopatolojik görünümü (HE x 80)



Resim 4. Kronik toksikasyon grubu köpeklere ait karaciğer doku örneğinin histopatolojik görünümü (HE x 200)

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karaciğer, metabolizmada merkezi bir role sahip vücuttaki en büyük paraneşimal organdır ve organizmada birçok maddenin sentezi, depolanması, detoksifikasyonu ve ekskresyonunda görev yapmaktadır (3, 4, 7).

Karaciğer hastalıkları köpeklerde oldukça yaygın olup hepatotoksinler, infeksiyöz ajanlar, metabolik bozukluklar, neoplaziler, vasküler malformasyonlar ve immün sebeplerin akut veya kronik karaciğer hasarına yolaçtığı bilinmektedir (10, 15, 17, 20). Karaciğer hastalıklarında hastalığın klinik belirtileri ortaya çıkmadan önce karaciğer dokusunun %70 veya daha fazlasını kaybettiği bildirilmiştir (179). Bu nedenle karaciğer hastalıklarının erken tanısı klinik bulguların yanı sıra hematolojik muayeneler, biyokimyasal analizler, serum proteinleri tayini, karaciğer fonksiyon testleri, ultrasonografi, radiografi, anjiyografi, skintigrafi ve histopatolojik muayenelerden bir veya birkaçının birlikte değerlendirilmesiyle konmaktadır (10, 12, 21, 176, 177, 178).

Karaciğer hastalıklarında klinik bulguların nonspesifik olduğu ve semptomlar ortaya çıkmadan önce karaciğerdeki harabiyetin oldukça ilerlediği bildirilmiştir (10, 15, 18, 179). Bu çalışmadaki akut toksikasyon grubu köpeklerde gözlenen klinik bulguların (iştahsızlık, durgunluk, sulu defekasyon), bu konuda yapılan çalışmalar ile benzer olduğu gözlemlendi (13, 46, 49, 180).

Turgut ve Ark.(46) köpeklerde akut CCL₄ toksikasyonunun ilk gününde durgunluk ve anoreksi olduğunu bildirmişlerdir. Bu bulgular mevcut çalışmadaki akut toksikasyonun klinik bulguları ile paralellik arz etmektedir.

Kronik karaciğer hastalıklarında karaciğer hasarının artmasına bağlı olarak klinik semptomların spesifikleştiği bildirilmiştir (15). Bu çalışmada kronik toksikasyon grubu köpeklerde tesbit edilen klinik bulguların (iştahsızlık, zayıflama, dışkı renginin açılması ve çamurumsu bir kıvam alması, koyu portakal sarısı renginde idrar, depresyon, 4 köpekte abdominal palpasyonda ağrı, 2 köpekte hafif derecede ikterus, 2 köpekte polidipsi ve 1 köpekte toksikasyonun 2. ayında cene altı ödem), bu konuyla ilgili benzer araştırmalarla (14, 41, 42, 43, 78, 86) uyum içinde olduğu görüldü.

Mwanza ve Ark. (54) DMNA ile kronik toksikasyon oluşturdukları köpeklerde denemenin ikinci haftasında köpeklerin tamamında iştah kaybı ve depresyon, beşinci haftasında ikterus, ateş, kilo kaybı, kusma ve asites gibi klinik belirtiler görüldüğünü

bildirmişlerdir. Bu bulgulardan ateş, kusma ve asites hariç diğer bulgular bu çalışmadaki kronik toksikasyonun klinik bulguları ile benzerdir.

Fujiwara ve Ark.(48), Vaden ve Ark.(49), Ronneberger ve Hein (52) ile Riedler ve Ark.(53), akut karaciğer toksikasyonlarında hematolojik parametrelerde değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada akut toksikasyon grubu köpeklerde hematolojik bulgular incelendiğinde (Tablo-2) lökosit, trombosit ve hematokrit düzeylerinde deneme öncesine göre istatistiki olarak bir farklılık olmadığı ($P>0.05$) tarafımızca da tesbit edildi. Fakat eritrosit ve hemoglobin düzeylerinde sadece 3. günde fizyolojik sınırlar içinde olmasına rağmen istatistiki olarak önemli derecede bir artış olduğu ($P<0.05$) belirlendi. Bu çalışmadaki eritrosit ve hemoglobin düzeylerindeki artışın sulu defekasyon neticesinde şekillenen çok hafif derecedeki dehidrasyona bağlı relatif bir artış olabileceği düşünülmektedir.

Kronik toksikasyon grubu köpeklerde hematolojik bulgular incelendiğinde (Tablo-3) eritrosit, trombosit, hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin deneme süresince istatistiki olarak önemli olmadığı belirlendi. Bu bulgular Chengelis C.P.(22)' nin bulgularıyla benzerlik, Mwanza ve Ark.(54)' nin bulgularıyla farklılık arz etmektedir.

Bu çalışmada kronik toksikasyon grubu köpeklerde lökosit sayısında önemli derecede bir artış olduğu ($P<0.001$) belirlendi. Bu bulgu birçok araştırmacının bulgularıyla benzer iken (14, 42, 181), bazı araştırmacıların bulgularıyla (22, 54) örtüşmemektedir.

Ogawa ve Ark.(181) CCL_4 ile oluşturdukları kronik renal toksikasyonda lökosit sayılarının kontrollere göre (10340 ± 920) toksikasyon grubunda (12320 ± 1040) arttığını ve bu artışın CCL_4 uygulamalarını müteakiben şekillenen tubüler değişikliklere bağlanabileceğini bildirmişlerdir. Bu bulgu mevcut çalışmadaki bulgularla paralellik arz etmektedir ve bu sonuca göre lökosit sayısındaki artışın artan karaciğer hasarına bağlı olarak şekillenmesi muhtemeldir.

Karaciğer hastalıklarının erken tanısında serum enzimlerinin saptanmasının oldukça önem arz ettiği (70, 82, 182) ve karaciğer bozukluklarında serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinin önemli derecede yükseldiği (44, 73, 78, 86, 183) bildirilmiştir.

Serum AST ve ALT' in karaciğer hasarının (51, 62, 64, 184), ALP' in ise kolestatik bozuklukların (17, 51, 64, 185) duyarlı bir belirleyicisi olduğu, ALT' in hepatik hasara AST' dan daha hızlı reaksiyon verdiği ve daha büyük oranda arttığı (58, 74, 83, 186) ve karaciğer

hastalıklarının ayırıcı tanısında bu enzim aktivitelerinin birlikte değerlendirilmelerinin diagnostik açıdan önemli olduğu (55, 62, 187) bildirilmektedir.

Deneysel olarak oluşturulan CCL₄ toksikasyonlarında AST, ALT ve ALP aktivitelerinin arttığı (26, 38, 39, 55, 62, 66), en büyük artışın ALT aktivitesinde olduğu ve ALT'ın AST ile ALP'ın izlediği (66, 74) bildirilmiştir.

Bu çalışmada akut toksikasyon grubu köpeklerde CCL₄ uygulamasından sonra 9 gün süresince serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinin önemli derecede arttığı (Tablo-4), serum AST ve ALT aktivitelerinin en yüksek değere 1.günde ulaşırken (Şekil 3 ve 4) ALP aktivitesinin 3.günde ulaştığı (Şekil 5) ve 9.güne doğru tüm enzim aktivitelerinin giderek azaldığı belirlendi. Bu bulgular birçok araştırmacının (13, 26, 39, 40, 46, 49, 52, 55, 62, 85, 184, 188) akut hepatik hasarla ilgili bulgularıyla uyum içindedir.

Akut CCL₄ toksikasyonlarında toksik madde uygulamasından sonra serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinin önemli derecede arttığı (33, 48, 74), serum AST ve ALT'ın denemenin ilk günü en yüksek değere ulaşırken (26, 46, 48, 189) ALP'ın 3.günde ulaştığı (60, 75), enzim düzeylerinin 10 günden fazla yüksek olarak kaldığı (15, 33, 46, 75) ve serum AST'ın ALT ve ALP'dan daha hızlı olarak normal değerlere döndüğü (32, 60, 66, 75) bildirilmiştir. Mevcut çalışmadaki bulgular yukardaki diğer araştırmacıların çalışmaları ile uyum içindedir.

Cauteren ve Ark.(75) 3 ml / kg CCL₄'ün tek bir dozunu uyguladıkları köpeklerde serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinin arttığını, AST ile ALT'ın 1. ve 2.günde ve ALP'ın 3.günde en yüksek değere ulaştığını, bu günlerden sonra enzim aktivitelerinin sürekli olarak azaldığı fakat ALT ve ALP 16. günde kontrol değerlere inmezken AST'ın 13. günde normale döndüğünü bildirmişlerdir. Bu bulgular bu çalışmadaki bulgularla benzer olup serum AST'ın 9.günde istatistiki olarak önem arzetmemesini desteklemekte ve bu azalmanın mevcut çalışmadaki dozun az olmasına bağlı olabileceği izlenimini vermektedir.

Bu çalışmada kronik toksikasyon grubu köpeklerde serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinin önemli derecede arttığı (Tablo-5) ve 12.haftada en yüksek değere ulaştığı (Şekil 7, 8 ve 9) belirlendi. Bu bulgu kronik karaciğer hasarında serum enzimlerinin arttığını bildiren birçok araştırmacının (14, 22, 31, 38, 41, 42, 54, 63, 77, 84, 181, 190) bulgularıyla aynı doğrultudadır.

Kronik CCL₄ toksikasyonlarında serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinin arttığı (25, 31, 38, 181, 190), bu artışın artan karaciğer hasarı ile doğru orantılı olduğu ve denemenin

sonunda en yüksek değere ulaştığı (25, 27, 31, 76, 181) bildirilmiştir. Bu bulgu deneme süresince serum enzimlerinin giderek arttığı çalışmadaki bulguları desteklemektedir.

Allis ve Ark.(27) 40 mg / kg CCL₄ dozajını 12 hafta süreyle haftanın 5 günü uyguladıkları ratlarda serum AST (2593 ± 1142 İÜ/L), ALT (3046 ± 1299 İÜ/L) ve ALP (84 ± 21 İÜ/L)' in önemli derecede arttığını bildirmişlerdir. Bu bulgu mevcut çalışmadaki serum ALT' in AST ve ALP' dan daha büyük derecede artması ile ilgili bulgularla aynı paraleldedir.

Karaciğer bozukluklarında ADA aktivitelerinin önemli derecede arttığı (102, 164, 167), bozuklukların ayırıcı tanısında ADA izoenzimlerinin (ADA 1 ve ADA 2) saptanmasının önemli ipuçları verebileceği (105, 114, 130), özellikle karaciğerin paransimal bozuklukları ile obstruktif bozukluklarının ayırımında yararlı olduğu (165, 169) bildirilmiştir.

Stahl ve Frick (108) sirozlu hastalarda kan ADA düzeylerinin yüksek olduğunu ve kan ADA düzeyleri ile hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit değer arasında hiçbir korelasyon olmadığını bildirmiştir. Bu bulgu mevcut çalışmadaki bulgularla paralellik arz etmektedir.

Akut toksikasyon grubu köpeklerde serum ADA düzeyinin CCL₄ toksikasyonundan sonra serum enzimleri (AST, ALT ve ALP) ile benzer olarak önemli derecede yükseldiği (P<0.001), en yüksek değere 1.günde ulaşırken 9.güne kadar giderek azaldığı, kronik toksikasyon grubu köpeklerde ise serum ADA düzeylerinin deneme süresince serum enzimleri ile birlikte önemli derecede yükselerek (P<0.001) en yüksek değere denemenin 12.haftasında ulaştığı belirlenmiştir. Bu bulguları karaciğer bozukluklarında serum ADA aktivitesinin yükseldiğini bildiren birçok araştırmacının (50, 102, 103, 108, 166, 169) bulguları desteklemektedir.

CCL₄ ile oluşturulan akut ve kronik karaciğer hasarında serum ADA aktivitesinin önemli derecede yükseldiği ve ADA' ın karaciğer hastalıklarının erken tanısında hücre hasarı parametrelerine ilave bir parametre olarak kabul gördüğü bildirilmiştir (124, 171). Bu bulgu karaciğer toksikasyonu oluşturulan köpeklerde serum ADA aktivitesinin yükseldiği bu çalışmadaki bulgularla paralellik arz etmektedir.

Gromashevskaiia ve Ark.(170) CCL₄ ile oluşturulan akut toksikasyonda rejenerasyon sürecinde serum AST, ALT, ALP ve ADA düzeylerinin azaldığını, kronik toksikasyonda ise aminotransferaz düzeylerinin azlmasına rağmen ALP ve ADA düzeylerinin arttığını

bildirmişlerdir. Bu bulgu akut CCL₄ toksikasyonunda toksikasyondan sonraki 1.günden 9.güne kadar olan süreçte serum enzimlerinin azaldığı mevcut bulgularla uyum içindedir.

Chikuma (133) serum ADA aktivitesinin karaciğer bozukluğu bulunan sığırlarda önemli derecede yükseldiğini, karaciğer bozukluklarındaki fibrosis derecesi ve dejenerasyonun histopatolojik bulguları ile ADA düzeyleri arasında ilişki olmamasına rağmen mononükleer hücre infiltrasyonunun artması ile serum ADA düzeyinin bariz şekilde yükseldiğini tesbit ettiğini bildirmiştir.

Kobayashi ve Ark.(168) serum ADA aktivitesinin karaciğer hastalıklarında (alkolik hepatik fibrosis, kronik aktif hepatitis, karaciğer sirozu ve hepatoma) yükseldiğini, akut hepatitide serum ADA düzeyindeki artışın kaynağının karaciğer hücre nekrozunun şiddetini gösterebileceğini, kronik hepatitisi hastalarda serum ADA düzeyindeki artışın periferik kan ve karaciğer dokusundaki lenfositlerdeki aktivasyon artışına bağlı olmayacağını bildirmişlerdir.

Kurata (130) karaciğer hasarı bulunan hastalarda serum ADA aktivitelerinin yükseldiğini, akut karaciğer hasarında serum ADA 1 aktivitesinin arttığını ve bunun başlıca hasarlı dokular veya hücrelerden kaynaklandığını, kronik karaciğer hasarında serum ADA 2 aktivitesinin arttığını ve bunun T hücrelerinin uyarılmasından kaynaklandığını bildirmiştir.

Bu çalışmada akut karaciğer toksikasyonunda serum ADA aktivitelerinin yükseldiği ve bunun histopatolojik bulgulardaki hasarın derecesi ile paralellik arzettiği yönündeki kanaatimiz bazı araştırmacıların (130, 168) bildirimleri ile uyum içindeyken, Chikuma (133)'nin ifadeleri ile benzerlik arzetmemektedir.

Kronik toksikasyon grubu köpeklerde serum ADA aktivitesinin giderek yükseldiği, bu yükselmenin karaciğer bozukluklarındaki fibrosis derecesi ve dejenerasyonun histopatolojik bulgularıyla paralellik arzettiği kanaatindeyiz. Bu Kobayashi ve Ark.(168)'nin bildirimleri ile benzerlik arzederken bazı araştırmacıların (130, 133) sonuçları ile uyuşmamaktadır.

Bu çalışmanın 4. ve 9.günlerinde akut toksikasyon grubu köpeklerden alınan karaciğer doku örneklerinde belirlenen histopatolojik bulgular (sentrilobuler ve midzonal bölgelerde hepatoselüler hidropik dejenerasyon, nekroz ve remark kordonlarında dissosiasyon), birçok araştırmacının (13, 26, 46, 47, 48, 75, 87, 189) bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Kronik toksikasyon grubu köpeklerde denemenin 6. ve 12.haftalarında alınan doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde akut toksikasyon grubu köpeklerde görülen

değişikliklere ilave olarak portal bölgelerde ve vena sentralislerin çevresinde bağ doku proliferasyonu (fibrozis) olduğu ve fibrozisin bu bölgelerden yer yer paransime doğru uzandığı tesbit edildi. Bu bulgular CCL₄ ile oluşturulan kronik toksikasyonun histopatolojik bulgularıyla uyum içindedir (25, 31, 37, 57, 89, 90, 191, 192).

Sonuç olarak, Adenozin deaminazın toksik hepatopati neticesinde oluşan karaciğer hasarının değerlendirilmesinde kullanılabileceği, akut ve kronik karaciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında önemli ipuçları verebileceği ve karaciğer hastalıklarının tanısında rutin biyokimyasal testlere ilave önemli bir diagnostik parametre olabileceği kanısına varıldı.



8. ÖZET

Bu çalışmada, köpeklerde karbontetraklorür (CCL₄) ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer toksikasyonlarında klinik, hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik bulgular değerlendirilerek, biyokimyasal bir parametre olan Adenozin deaminaz'ın karaciğer hasarının belirlenmesindeki etkinliği araştırıldı.

Çalışmada, 20 adet sağlıklı melez köpek kullanıldı. Akut toksikasyon grubuna (10 köpek) bir kez 1.5ml/kg dozunda, kronik toksikasyon grubuna (10 köpek) ise 12 hafta süreyle haftada iki kez 0.5ml/kg dozunda CCL₄'ün zeytin yağındaki (1:1) süspansiyonu 12 saatlik açlığı takiben orogastrik sondayla verildi. Bütün köpekler deneme öncesi (2 gün) ve deneme süresince akut toksikasyon grubu köpekler denemenin 1., 3., 5., 7. ve 9. günlerinde, kronik toksikasyon grubu köpekler ise 21 gün arayla 4 kez klinik muayene, hematolojik ve biyokimyasal analizleri yapıldı. Akut toksikasyon grubunda denemenin 4. ve 9. günü, kronik toksikasyon grubunda ise denemenin 6. ve 12. haftalarında ultrasonografi rehberliğinde alınan karaciğer biyopsilerinin histopatolojik incelemeleri yapıldı.

Deneme süresince akut toksikasyon grubunda iştahsızlık, durgunluk ve sulu defekasyon, kronik toksikasyon grubunda ise iştahsızlık, zayıflama, dışkı renginin açılması ve çamurumsu bir kıvam alması, koyu portakal sarısı renginde idrar ve depresyon gözlemlendi. Hematolojik bulgular incelendiğinde akut toksikasyon grubunda eritrosit ve hemoglobin düzeylerinde (3.günde) artış ($P<0.05$), kronik toksikasyon grubunda ise lökosit düzeylerindeki artış ($P<0.001$) istatistiki olarak önemli bulundu. Her iki grupta diğer hematolojik parametreler deneme süresince değişmedi ($P>0.05$). Akut ve kronik grubun biyokimyasal parametrelerinde (Serum AST, ALT, ALP ve ADA) deneme öncesine göre istatistiki olarak önemli bir artış tesbit edildi ($P<0.001$). Karaciğer materyalinin histopatolojik incelemesinde akut toksikasyon grubunda sentrilobuler ve midzonal bölgelerde belirgin olan hepatoselüler hidropik dejenerasyon, nekroz ve remark kordonlarında dissosiasyon, kronik toksikasyon grubunda ise portal bölgelerde, vena sentralislerin çevresinde ve yer yer paransime doğru uzanan fibrozis tesbit edildi.

Sonuç olarak Adenozin deaminazın toksik hepatopati neticesinde oluşan karaciğer hasarının değerlendirilmesinde kullanılabileceği, akut ve kronik karaciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında önemli ipuçları verebileceği ve karaciğer hastalıklarının tanısında rutin biyokimyasal testlere ilave önemli bir diagnostik parametre olabileceği kanısına varıldı.

9. SUMMARY

The significance of adenosine deaminase in experimental toxicosis of liver in dogs.

In the present study, ADA activities were investigated together with clinic, biochemical, haematological and histopathological findings in dogs experimentally toxicated with CCL₄ to determine ADA's role on liver toxications.

In this study, 20 healthy cross breed dogs were used. The dogs were divided in two groups of ten dogs as acute and chronic toxication group. CCL₄ were prepared in olive oil (1:1). Dogs in acute toxication group received 1.5 ml / kg CCL₄ once. Dogs in chronic toxication group received 0.5 ml / kg CCL₄ twice a week during 12 weeks period. The CCL₄ were inoculated to the dogs by orogastric probe after 12 hours of hunger. Clinical, haematological and biochemical analysis were made in all dogs 2 days before experiment, on days 1., 3., 5., 7. and 9 in acute toxication group and four times in 21 days intervals in chronic toxication group. Liver biopsies with the guide of ultrasonography were taken on days 4 and 9 from acute toxication group and weeks 6 and 12 from chronic toxication group.

During experiment; inappetance, stillness and watery defecation in acute toxication group and, inappetance, weakness, light colour of gaita, dark orange colour of urine and depression in chronic toxication group were observed. Erythrocyte and haemoglobin levels increased significantly ($P<0.05$) on third day in acute toxication group. On the other hand, total leucocyte levels increased significantly ($P<0.001$) in chronic toxication group. Other haematologic parameters were not changed significantly ($P>0.05$) in both groups of dogs. Significantly important increases ($P<0.001$) were also observed in biochemical parameters (serum AST, ALT, ALP and ADA) in both groups of dogs. In centrilobular and midzonal regions, precise hepatocellular hydropic degeneration, necrosis and dissociation in remarc cordons were observed in acute toxication group. On the other hand, fibrosis were observed in portal regions, around vena centralis and paranchime tissues in chronic toxication group.

As a result, it is concluded that, determination of ADA activity can be useful in the assesment of liver degeneration caused by toxic hepatopathy. It is also important in the differentiation of acute and chronic liver disease. So, determination of ADA activity can be added to the other routine biochemical tests that used in the diagnosis of liver diseases.

10. KAYNAKLAR

1. Dursun, N. (1998) Veteriner Anatomi II, 4. Baskı, Medisan Yay., Ankara, 63-71.
2. Ewans, H.E. (1993) Miller's Anatomy of the Dog, Third Ed., W.B.Saunders company, USA.
3. Swenson, M.J. and Reece, W.O. (1993), Duke's Physiology of Domestic Animals, Eleventh Ed., Cornell Un. Press., Ithaca, USA, 357-360.
4. Frandson, R.D. (1986) Anatomy and Physiology of Farm Animals, Fourth Ed., Lea and Febiger, Philadelphia, USA, 334-335.
5. Tanyolaç, A. (1993) Özel Histoloji, Yorum Matbaacılık, Ankara.
6. Dellmann, H.D. (1993) Textbook of Veterinary Histology, Fourth Ed., Philadelphia, USA, 185-190.
7. Banks, W.J. (1993) Applied Veterinary Histology, Third Ed., Texas, USA, 163-174.
8. Jones, T.C. (1983) Veterinary Pathology, Fifth Ed., Lea and Febiger, Philadelphia, USA, 1411-1437.
9. Reece, W.O. (1997) Physiology of Domestic Animals, Second Ed., Baltimore, USA, 287-319.
10. Chandler, E.A., Thompson, D.J., Sutton, J.B. and Price, C.J. (1995) Canine Medicine and Therapeutics, Third Ed., Blackwell Science, Cambridge, USA, 579-599.
11. Sodeman, W.A. and Sodeman, T.M. (1985) Sodeman's Pathologic Physiology Mechanisms of Disease, Seventh Ed., USA.
12. Thomas, D., Simpson, J.W. and Hall, E.J. (1996) BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology, First Ed., BSAVA, UK, 191-219.
13. Polzin, D.J., Stowe, C.M., O'Leary, T.P. and Hardy, R.M. (1981) Acute hepatic necrosis associated with the administration of mebendazole to Dogs, JAVMA, 179, 10, 1013-1016.
14. Chapman, B.L., Hendrick, M.J. and Washabau, R.J. (1993) Granulomatous hepatitis in Dogs: nine cases (1987-1990), JAVMA, 203, 5, 680-684.
15. Babb, R.R. (1992) Chronic liver disease, Postgraduate Med., 91, 7, 89-96.
16. Szczeklik, E., Orłowski, M. and Szewczuk, A. (1961) Serum gamma glutamyl transpeptidase activity in liver disease, Clin. Chim. Acta., 41, 4, 353-359.

17.Taboada, J. and Meyer, D.J. (1989) Cholestasis associated with extrahepatic bacterial infection in five dogs, *J. Vet. Intern. Med.*, 3, 4, 216-221.

18.İmren, H.Y. (1998) *Kedi ve Köpek Hastalıkları*, 1. Baskı, Medisan Yay., Ankara, 38-92.

19.Center, S.A., Slatter, M.R., Manwarren, T. and Prymak, K. (1992) Diagnostic efficacy of serum alkaline phosphatase and gamma glutamyltransferase in dogs with histologically confirmed hepatobiliary disease: 270 cases (1980-1990), *JAVMA*, 201, 8, 1258-1264.

20.Ettinger, S.J. and Feldman, E.C. (1995) *Textbook of the Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat*, Fourth Ed., Vol. 2, Philadelphia, USA, 1261-1357.

21.Manderino, D. and De Vries, J.G. (1985), Hepatic encephalopathy in dogs, *Modern Vet. Prac.*, 66, 12, 975-984.

22.Chengelis, C.P., Port, C.D. and Dickie, B.C. (1988) The chronic toxicity of bromovinyldeoxyuridine in beagle dogs, *Fund. and Appl. Toxicol.*, 11, 143-154.

23.Strombeck, D.R. and Guilford, W.G. (1990) *Small Animal Gastroenterology*, Second Ed., Stonegate publishing company, California, USA.

24.Vural, N. (1996) *Toksikoloji*, A.Ü. Ecz. Fak. Yay. No: 73, Ankara, 463-466.

25.Yoshitake, I., Ohishi, E., Sano, J., Mori, T. and Kubo, K. (1991) Effects of KF-14363 on liver fibrosis in rats with chronic liver injury induced by carbon tetrachloride, *J. Pharmacobio-Dyn.*, 14, 679-685.

26.Harvey, M.J. and Klaassen, C.D. (1983) Interaction of metals and carbon tetrachloride on lipid peroxidation and hepatotoxicity, *Toxicol. and Appl. Pharm.*, 71, 316-322.

27.Allis, J.M., Ward, T.R., Seely, J.C. and Simmons, J.E. (1990) Assessment of hepatic indicators of subchronic carbon tetrachloride injury and recovery in rats, *Fund. and Appl. Toxicol.*, 15, 558-570.

28.Payer, J.L., McCay, P.B., Lai, E.K., Janzen, E.G. and Davis, E.R. (1980) Conformation of assignment of the trichloromethyl radical spinadduct detected by spintrapping during ¹³C- carbon tetrachloride metabolism in vitro and in vivo, *Biochem. Biophys. Res. Common.*, 94, 1154-1160.

29. McCay, P.B., Lai, E.K., Payer, J.L., Dubase, C.M. and Janzen, E.G. (1984) Oxygen and carbon centered radical formation during carbon tetrachloride metabolism, *J. Biol. Chem.*, 259, 2135-2143.

30. Ichinose, T., Miller, M.G. and Shibamoto, T. (1994) Determination of free malonaldehyde formed in liver microsomes upon CCL₄ oxidation, *J. Appl. Toxicol.*, 14, 6, 453-455.

31. Dashti, H., Jeppsson, B., Hagerstrand, I., Hultberg, B., Srinivas, U. and et all. (1989) Thioacetamide and carbon tetrachloride induced liver cirrhosis, *Eur. Surg. Res.*, 21, 83-91.

32. Noonan, N.E. (1981) Variations of plasma enzymes in the pony and the dog after carbon tetrachloride administration, *Am. J. Vet. Res.*, 42, 4, 674-678.

33. Aminlari, M., Vaseghi, T., Sajedianfard, M.J. and Samsami, M. (1994) Changes in arginase, aminotransferases and rhodanase in sera of domestic animals with experimentally induced liver necrosis, *J. Comp. Pathol.*, 110, 1, 1-9.

34. Sobue, K., Ichijo, S. and Osame, S. (1992) Determination of serum enzyme activity in cats as a liver function test, *J. Vet. Med.*, 45, 2, 101-106.

35. Sharma, M.C. and Pathak, N.N. (1991) Effect of different dietary protein levels on the ameliorative action of Liv.52 on carbon tetrachloride induced hepatopathy in goats: haematological changes, *Indian Vet. Med. J.*, 15, 2, 97-103.

36. Dolak, J.A., Briston, R.S., Glende, E.A. and Recknagel, R.O. (1987) Chlordecone does not interfere with hepatic repair after carbon tetrachloride or partial hepatectomy *J. Biochem. Toxicol.*, 2, 57-66.

37. Rubaj, M., Czarnecki, J., Rubaj, B. and Piecinska, T. (1990) Effects of D-penicillamine and experimental liver cirrhosis in rats, *Patol. Pol.*, 41, 1-2, 76-89.

38. Fujimoto, K. and Nakata, K. (1972) Anatomical lesions being responsible for development of portal hypertension in carbon tetrachloride induced rat liver cirrhosis, *Acta Pathologica Japonica*, 22, 4, 625-635.

39. Anwer, M.S., Engelking, L.R., Gronwall, R. and Klentz, R.D. (1976) Plasma bile acid elevation following CCL₄ induced liver damage in dogs, sheep, calves and ponies, *Res. Vet. Science*, 20, 2, 127-130.

40. Mullen, K.D., Birgisson, S., Gacad, R.C. and Conjeevaram, H. (1994) Animals model of hepatic encephalopathy and hyperammonemia, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 368, 1-10.

41. Dayrell-Hart, B., Steinberg, S.A., Van Winkle, T.J. and Farnbach, G.C. (1991) Hepatotoxicity of phenobarbital in dogs: 18 cases (1985-1989), *JAVMA*, 199, 8, 1060-1066.

42. Johnson, G.F., Zawie, D.A., Gilbertson, S.R. and Sternlieb, I. (1982) Chronic active hepatitis in doberman pinschers, *JAVMA*, 180, 12, 1438-1442.

43. Kraft, W. (1993) Köpek ve kedilerde karaciğer tanıları, Türk-Alman günleri, Tebliğler, İ.Ü. Vet. Fak., 1-4.

44. Crawford, M.A., Schall, W.D., Jensen, R.K. and Tasker, J.B. (1985) Chronic active hepatitis in 26 doberman pinschers, *JAVMA*, 187, 12, 1343-1349.

45. Barr, F. (1991) Liver ultrasound in the dog, *The Vet. Annual.*, 31, 120-125.

46. Turgut, K., Demir, C., Ok, M. and Çiftçi, M.K. (1995) Ultrasonographic evaluation of the liver damage in the dog with carbon tetrachloride intoxication, *Turkish J. Vet. and Anim. Sci.*, 19, 335-338.

47. Voros, K., Albert, M., Vetesi, F., Harmat, G., Binder, K. and Szaniszló, F. (1997) Hepatic ultrasonographic findings in experimental carbon tetrachloride intoxication of the dog, *Acta Vet. Hung.*, 45, 2, 137-150.

48. Fujiwara, K., Oka, Y., Ogata, I., Ohta, Y., Sato, Y. and et al. (1988) Exchange blood transfusion for acute hepatic failure: Its limited availability depending on the type of injury in rats, *Artificial Organs*, 12, 3, 227-233.

49. Vaden, S.L., Bunch, S.E., Duncan, D.E. and Cullen, J.M. (1988) Hepatotoxicosis associated with heartworm / hookworm preventive medication in a dog, *JAVMA*, 192, 5, 651-654.

50. Mejer, J. and Reinicke, V. (1983) Changes in some nucleoside metabolizing enzymes of lymphocytes and granulocytes from patients with cirrhosis of the liver, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 43, 227-232.

51. Payne, J.T., Martin, R.A., Moon, M.L., Saunders, G.K., Donaldson, L. and et al. (1991) Effect of left hepatic vein ligation on hepatic circulation, function and microanatomy in dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 52, 5, 774-780.

52. Ronneberger, H. and Hein, B. (1984) Effect of antithrombin III on experimental hepatotoxin poisoning in dogs, *Arzneimittelforschung*, 34, 3, 277-279.

53. Riedler, G.F., Zollinger, P. and Schmid, M. (1975) Changes in the blood picture in liver diseases, *Scweiz Med. Wochenschr.*, 105, 47, 1593.

54.Mwanza, T., Miyamoto, T., Okumura, M., Kadosawa, T. and Fujinaga, T. (1997) Ultrasonography, biochemical and hematological profiles in liver disease caused by intravenous administration of dimethylnitrosamine in dogs, *Jpn. J. Vet. Res.*, 45, 3, 153-161.

55.Reichling, JJ. and Kaplan, M.M. (1988) Clinical use of serum enzymes in liver disease, *Dig. Dis. and Sci.*, 33, 12, 1601-1614.

56.Zilva, J.F. and Pannoll, P.R. (1988) Tanı ve Tedavide Klinik Biyokimya, Çeviri: Tuncay Özgüner.

57.Speeti, M., Eriksson, J., Saari, S. and Westermarck, E. (1998) Lesions of subclinical doberman hepatitis, *Vet. Pathol.*, 35, 5, 361-369.

58.Keller, P. (1981) Enzyme activities in the dog: tissue analyses, plasma values and intracellular distribution, *Am. J. Vet. Res.*, 42, 4, 575-582.

59.Aguilera, E., Mayer, T.R., Cardenas, V. and Cardenas, G.G. (1988) Plasma bile acids, lactate dehydrogenase and sulphobromophthalein retention test in canine carbon tetrachloride intoxication, *J. Small. Anim. Pract.*, 29, 711-717.

60. Noonan, N.E. and Meyer, D.J. (1979) Use of plasma arginase and gamma-glutamyl transpeptidase as specific indicators of hepatocellular or hepatobiliary disease in the dog, *Am. J. Vet. Res.*, 40, 7, 942-947.

61. Lohss, E., Federhen, C. and Kraft, W. (1988) Ornithine carbamyl transferase (OCT), 5'nucleotidase (5'ND) and leucine arylamidase (LAP) as diagnostic aids in liver diseases in dogs, *J. Vet. Med.*, 35, 2, 81-91.

62. Kaplan, M.M. (1986) Serum alkaline phosphatase-Another piece is added to the puzzle, *Hepatology*, 6, 3, 526-528.

63. Lum, G. and Gambino, S.R. (1972) Serum gamma glutamyl transpeptidase activity as an indicator of disease of liver, pancreas or bone, *Clinical Chemistry*, 18, 4, 358-362.

64. Terletskaia, L.M. (1981) Comparative evaluation of the diagnostic importance of determining 5-nucleotidase and alkaline phosphatase in the blood serum in liver and biliary tract diseases, *Vestn. Khir.*, 127,10, 47-51.

65. Gül, Y. (1990) Serum Safra Asitleri ve Teşhisdeki Önemi, *Fırat Ün. Sağ. Bil. Derg.*, 4, 1, 79-85.

66. Turgut, K., Demir, C., Ok, M. and Çiftçi, K. (1997) Pre-and Postprandial total

serum bile acid concentration following acute liver damage in dogs, *J. Vet. Med. A.*, 44, 25-29.

67. Center, S.A., Man Warren, T., Slater, M.R. and Wilentz, E. (1991) Evaluation of twelve-hour preprandial and two-hour postprandial serum bile acids concentrations for diagnosis of hepatobiliary disease in dogs, *JAVMA*, 199, 2, 217-226.

68. Jensen, A.L. (1991) Evaluation of fasting and postprandial total serum bile acid concentration in dogs with hepatobiliary disorders, *J. Vet. Med.*, 38, 4, 247-254.

69. Johnson, S.E., Rogers, W.A., Bonagura, J.D. and Caldwell, J.H. (1975) Determination of serum bile acids in fasting dogs with hepatobiliary disease, *Am. J. Vet. Res.*, 46, 10, 2048-2053.

70. Ferraris, R., Colombatti, G., Fiorentini, m.T., Carosso, R., Arossa, W., De La Pierre, M. (1983) Diagnostic value of serum bile acids and routine liver function tests in hepatobiliary diseases. Sensitivity, specificity and predictive value, *Dig. Dis. Sci.*, 28, 2, 129-136.

71. Bruijne, J.J., Rothuizen, J. and De-Bruijne, J.J. (1988) The value of serum bile acid and GLDH in the screening for canine liver function disorders, *Anim. Clin. Biochem.*, 174-180.

72. Hauge, J.G. and Abdelkader, S.V. (1984) Serum bile acids as an indicator of liver disease in dogs, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 25, 4, 495-503.

73. Center, S.A., Baldwin, B.H. and Tennant, B.C. (1985) Bile acids concentrations in the diagnosis of hepatobiliary disease in the dog, *JAVMA*, 187, 9, 935-940.

74. Litchfield, M.H. and Gartland, C.J. (1974) Plasma enzyme activity and hepatocellular changes in the beagle dog after single or repeated administration of carbon tetrachloride, *Toxicol. and Appl. Pharm.*, 30, 1, 117-128.

75. Van Cauteren, H., Marsboom, R., Vandenberghe, J. and Will, J.A. (1983) Safety studies evaluating the effect of mebendazole on liver function in dogs, *JAVMA*, 183, 1, 93-98.

76. Cynober, F.B., Plassart, F., Rey, C., Lucas, C.C., Moukarbel, N., Poupon, R., Giboudeau, J. and Cynober, L. (1994) Assessment of the carbon tetrachloride induced cirrhosis model for studies of nitrogen metabolism in chronic liver disease, *Ann. Nutr. Metab.*, 38, 238-248.

77. Poitout, F., Weiss, D.J. and Armstrong, P.J. (1997) Cell-mediated immune

responses to liver membrane protein in canine chronic hepatitis, *Vet. Immunology and Immunopathology*, 57, 169-178.

78. Bunch, S.E., Baldwin, B.H., Hornbuckle, W.E. and Tennant, B.C. (1984) Compromised hepatic function in dogs treated with anticonvulsant drugs, *JAVMA*, 184, 4, 444-448.

79. Altıntaş, A. Fidancı, U.R. (1993) Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri, *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 40, 2, 173-185.

80. Töre, İ.R. (1978) Enzim testleri ve veteriner kliniğinde uygulamaları, *İst. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 4, 2, 39-62.

81. Mengi, A., Serpek, B. ve Bilal, T. (1983) Normal ve hasta köpeklerin kan serumlarında glutamik oksalasetik transaminaz (GOT), Glütamik pirüvik transaminaz ve gama glutamil transpeptidal aktiviteleri ile serüloplazmin konsantrasyonu üzerine çalışmalar, *İst. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 9, 2, 21-27.

82. Abdelkader, S.V. and Hauge, J.G. (1986) Serum enzyme determination in the study of liver disease in dogs, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 27, 1, 59-70.

83. Montenari, P. and Ricci, A. (1979) Traditional and improved methods for enzyme assay in liver disorders in the dog: comparative evaluation, *Clinica Veterinaria*, 102, 2, 135-138.

84. Wolfgang, G.H., Robertson, D.G., Welty, D.F. and Metz, A.L. (1995) Hepatic and adrenal toxicity of a novel lipid regulator in beagle dogs, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 26, 2, 272-281.

85. İto, S., Takaoka, T., Hirano, H., Kishi, S. and Mori, H. (1981) Clinical evaluation of measurement of serum guanase activity as a screening test of liver damage, *Gastroenterology. Jpn.*, 16, 5, 478-492.

86. Strombeck, D.R. (1978) Clinicopathologic features of primary and metastatic neoplastic disease of the liver in dogs, *JAVMA*, 173, 3, 267-269.

87. Radostits, O.M., Blood, D.C. and Gay, C.C. (1994) *Veterinary Medicine, Textbook, Eighth Ed.*, London, UK, 1507-1508.

88. Milli, Ü.H. ve Hazıroğlu, R. (1997) *Veteriner Patoloji, I. Cilt, Tamer Matbaacılık, Ankara*, 161-201.

89. Nielsen, A.F., Poulsen, H.E., Hansen, B.A., Hage, E. and Keiding, S. (1991) CCL₄ cirrhosis in rats irreversible histological changes and differentiated functional

impairment, *J. Hepatology*, 12, 110-117.

90. Doi, K., Kurabe, S., Shimazu, N. and Inagaki, M. (1991) Systemic histopathology of rats with CCL₄ induced hepatic cirrhosis, *Laboratory animals*, 25, 21-25.

91. Yasuda, J., Tanabe, T., Hashimoto, A. and Too, K. (1996) Adenosine deaminase (ADA) activity in tissues and sera from normal and leukaemic cattle, *Br. Vet. J.*, 152, 4, 485-488.

92. Martinez, C., Zumalacarregui, J.M., Diez, V. and Burgos, J. (1984) Bovine skeletal muscle adenosine deaminase purification and some properties, *Int. J. Biochem.*, 16, 12, 1279-1282.

93. Chechik, B.E., Baumal, R. and Sengupta, S. (1983) Localization and identity of adenosine deaminase-positive cells in tissues of the young rat and calf, *Histochemical Journal*, 15, 373-387.

94. Senesi, S., Batoni, G., Bianchi, F., Freer, G., Dolfi, A., Campa, M. and Lupetti M. (1990) Questioning the role of adenosine deaminase in the development of B lymphocytes in chicken bursa, *Developmental and Comp. Immunology*, 14, 95-104.

95. Copelan, E.A., Waddell, K.S., Johnson, S.C. and Mathes, L. (1990) Purine metabolism in Feline Lymphomas, *Vet. Pathol*, 27, 117-121.

96. Koizumi, H., Tomizawa, K., Tanaka, H., Kumakiri, M. and Ohkawara, A. (1993) Clinical significance of serum adenosine deaminase activity in patients with Mycosis Fungoides, *J. Dermatology*, 20, 394-399.

97. Martin, D.W., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. (1983) *Harper's Review of Biochemistry*, LANGE Med. Publ., 19th edition, California, USA, 342-359.

98. Ersoy, E., ve Bayşu, N. (1986) *Biyokimya*, A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, No: 408, A.Ü. Basımevi, Ankara.

99. Bandyopadhyay, B.C. and Poddar, M.K. (1994) Caffeine-induced increase of adenosine deaminase activity in mammalian lymphoid organs, *Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 16, 10, 731-733.

100. Hough, R.F. and Bass, B.L. (1994) Purification of the xenopus laevis double-stranded RNA adenosine deaminase, *The J. Biol. Chem.*, 269, 13, 9933-9939.

101. Rotandaro, L. (1981) Multiple forms of adenosine deaminase in the thymus of the bovine fetus and calf, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 57, 23, 2355-2360.

102. Tanabe, T. (1993) Adenosine deaminase activities in the sera and tissues of

and pleural adenosine deaminase activity, *Chest*, 99, 6, 1555-1556.

116. Agarwal, R.P., Sagar, S.M. and Parks, R.E. (1975) Adenosine deaminase from human erythrocytes, *Biochem pharmacol.*, 24, 693-701.

117. Rodman, L.E., Farnell, D.R., Coyne, J.M., Allan, P.W. and et al. (1997) Toxicity of cordycepin in combination with the adenosine deaminase inhibitor 2'-deoxycoformycin in beagle dogs, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 147, 1, 39-45.

118. Lewis, R.A., Link, L. and Chen, W. (1989) Degradation of purine nucleosides by mitochondrial enzymes of bovine liver, *Biochim. Biophys. Acta*, 942, 353-357.

119. Tedde, A., Balis, M.E., Ikehara, S., Pahwa, R., Good, R.A. and Trotta, P.P. (1980) Animal model for immune dysfunction associated with adenosine deaminase deficiency, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 77, 8, 4899-4903.

120. Hovi, T., Smyth, J.F., Allison, A.C. and Williams, S.C. (1976) Role of adenosine deaminase in lymphocyte proliferation, *Clin. Exp. Immunol.*, 23, 3, 395-403.

121. Shimazaki, M., Kumada, Y., Takeuchi, T., Umezawa, H. Watanabe, K. (1979) Studies on inhibition of adenosine deaminase by isocofomycin in vitro and in vivo, *J. Antibiot., Tokyo*, 32, 6, 654-658.

122. Bandyopadhyay, B.C. and Poddar, M.K. (1997) Theophylline-induced changes in mammalian adenosine deaminase activity and corticosterone status: possible relation to immune response, *Methots Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 19, 3, 181-184.

123. Kane, B.J., Kuhn, J.G. and Roush, M.K. (1992) Pentostatin: An adenosine deaminase inhibitor for the treatment of hairy cell leukemia, *Ann. Pharma Cother.*, 26, 939-947.

124. Zuck, V.U. und Rotzsch, W. (1990) Die adenosin desaminase (ADA)-biologische und medizinisch-diagnosticische Bedeutung, *Z. Med. Lab. Diagn.*, 31, 231-238.

125. Henderson, J.F., Smith, C.M. and Zombor, G. (1985) Regulation of purine metabolism in lymphocytes, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 179, 4, 419-426.

126. Leo, M., Kolb, E., Siebert, P. and Dittrich, H. (1995) Adenosine deaminase activity in blood and tissues of horses of the Rassen Haflinger and Thuringer Kaltblut breeds, *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 102, 10, 405-407.

127. Kate, J.T., Dinjens, W.N.M., Khan, P.M. and Bosman, F.T. (1986) Adenosine deaminase complexing protein in cancer studies, *Anticancer research*, 6, 983-988.

128. Rutkiewicz, J. and Gorski, J. (1990) On the role of insulin in regulation of

129. Adams, A. and Harkness, R.A. (1976) Adenosine deaminase activity in thymus and other human tissues, *Clin. Exp. Immunol.*, 26, 3, 647-649.
130. Kurata, N. (1995) Adenosine deaminase, *Nippon Rinsho*, 53, 5, 1178-1183.
131. Osborne, W.R.A., Hammond, W.P. and Dale, D.C. (1983) Canine cyclic hematopoiesis is associated with abnormal purine and pyrimidine metabolism, *J. Clin. Invest.*, 71, 1348-1355.
132. Hillebrand, D.J., Runyon, B.A., Yasmineh, W.G. and Rynders, G.P. (1996) Ascitic fluid adenosine deaminase insensitivity in detecting tuberculous peritonitis in the United States, *Hepatology*, 24, 6, 1408-1412.
133. Chikuma, S. (1997) Clinicopathological studies of serum adenosine deaminase activity in cattle, *Jpn. J. Vet. Res.*, 45, 2, 125-126,
134. Sywall, R., Kolb, E., Grundel, G., Schineff, C. and Schmidt, U. (1987) Activity of adenosine deaminase, 5-nucleotidase and of mg-, Na, K- and Ca-ATPase in supernatant and homogenate of various tissues and of adenosine deaminase in the serum of Cattle, *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 41, 2, 147-159.
135. Jagueti, J., Hernandez, D.M., Garcia, R.H. and Gallar, F.N. (1990) Adenosine deaminase in pregnancy serum, *Clinical chemistry*, 36, 12, 2144.
136. Valentine, W.N., Paglia, D.E. and Gilsanz, F. (1977) Hereditary hemolytic anemia with increased red cell adenosine deaminase (45-to 70-fold) and decreased adenosine triphosphate, *Science*, 195, 783-784.
137. Gülmezoğlu, E. Ve Ergüven, S. (1994) *İmmunoloji*, Hacettepe Taş Kit., 204-205.
138. Magnuson, N.S., Decker, D.M. and Perryman, L.E. (1983) Increased susceptibility of fibroblasts from horses with severe combined immunodeficiency to growth inhibition by 2'-Deoxyadenosine, *Clin. Immunology and Immunopathology*, 29, 391-402.
139. Bremer, H., Bauer, I. and Brock, J. (1981) Adenosine deaminase activity and immune dysfunction, *Allerg. Immunol.*, 27,1, 3-13.
140. Tax, W.J.M. and Veerkamp, J.H. (1978) Activity of adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase in erythrocytes and lymphocytes of man, horse and cattle, *Comp. Biochem. Physiol.*, 61B, 439-441.
141. Magnuson, N.S., Perryman, L.E., Suttle, D.P., Robinson, J.L., Mason, P.H. and
-

Marta, K.M. (1985) Metabolic investigations of fibroblasts from horses, *Equus Caballus*, with hereditary severe combined immunodeficiency, *Comp. Biochem. Phys.*, 81 B, 3, 781-786.

142.Wyatt, C.R., Magnuson, N.S. and Perryman, L.E. (1987) Defective thymocyte maturation in horses with severe combined immunodeficiency, *J. Immunology*, 139, 12, 4072-4076.

143.Perryman, L.E. and Magnuson, N.S. (1982) Immunodeficiency disease in animals, *Prog. Clin. Biol. Res.*, 94, 271-307.

144.Markert, M.L., Hershfield, M.S., Schiff, R.I. and Buckley, R.H. (1987) Adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase deficiencies: evaluation of therapeutic interventions in eight patients, *J. Clinical Immunology*, 7, 5, 389-399.

145.Onodera, M., Ariga, T., Kawamura, N., Kabayashi, I., Ohtsu, M. and et all. (1998) Successful peripheral T-lymphocyte directed gene transfer for a patient with severe combined immune deficiency caused by adenosine deaminase deficiency, *Blood*, 91, 1, 30-36.

146.Compbell, T.M. and Studdert, M.J. (1983) Reconstitution of primary, severe, combined immuno deficiency in man and horse, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 6, 2, 101-114.

147.Meuwissen, H.J., Pollora, B. and Pickering, R.J. (1975) Combined immunodeficiency disease associated with adenosine deaminase deficiency, *J. Pediatr.*, 86, 2, 169-181.

148.Sasaki, S. (1984) Pathogenetic significance of adenosine deaminase in autoimmune diseases, *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*, 58, 2, 219-230.

149.Jackson, R.C., Morris, H.P. and Weber, G. (1978) Adenosine deaminase and adenosine kinase in rat hepatomas and kidney tumours, *Br. J. Cancer*, 37, 5, 701-713.

150.Perryman, L.E., Wyatt, C.R. and Magnusan, N.S. (1984) Biochemical and functional characterization of lymphocytes from a horse with lymphosarcama and igM deficiency, *Comp. Immunology, Microbiology and infectious diseases*, 7, 1, 53-62.

151.Van Learhoven, J.P., De Gast, G.C., Spierenburg, G.T. and De Bruyn, C.H. (1983) Enzymological studies in chronic lymphocytic leukemia, *Leuk. Res.*, 7, 2, 261-267.

152.Jaqueti, J., Hernandez, D.M., Garcia, R.H. and Gallar, F.N. (1991) Adenosine deaminase increased in serum in Toxoplasmosis, *Clinical Chemistry*, 37, 11, 2021.

153. İda, T., Tani, S., Nitta, M., Shimase, J., Makiguchi, K. and et al. (1990) Serum adenosine deaminase (ADA) activity in patients with active pulmonary tuberculosis, *Kekkaku*, 65, 7, 477-481.

154. Stancikova, M., Lukac, J., Istok, R., Cristalli, G. and Rovensky, J. (1998) Serum adenosine deaminase activity and its isoenzyme pattern in patients with systemic lupus erythematosus, *Clin. Exp. Rheumatol.*, 16, 5, 583-586.

155. Ungerer, J.P.J., Burger, H.M., Bissbort, S.H. and Vermaak, W.J.H. (1996) Adenosine deaminase isoenzymes in Typhoid Fever, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 15, 510-512.

156. Oriols, R., Munoz, X., Drobnic, Z., Ferrer, J. and Morell, F. (1992) High adenosine deaminase activity in pleural effusion due to Psittacosis, *Chest*, 101, 3, 881-882.

157. Hirschberger, J. and Koch, S. (1995) Validation of the determination of the activity of adenosine deaminase in the body effusions of cat, *Res. Vet. Sci.*, 59, 3, 226-229.

158. Dwivedi, M., Misra, S.P., Misra, V. and Kumar, R. (1990) Value of adenosine deaminase estimation in the diagnosis of Tuberculous ascites, *Am. J. Gastroenterology*, 85, 9, 1123-1125.

159. Bhargava, D.K., Gupta, M., Nijhawan, S., Dasarathy, S. and Kushwaha, A.K.S. (1990) Adenosine deaminase (ADA) in peritoneal tuberculosis: diagnostic value in ascitic fluid and serum, *Tubercle*, 71, 121-126.

160. Aguado, J.M. and Pons, F. (1989) Adenosine deaminase and tuberculous peritonitis, *Lancet*, June 3, 1260-1261.

161. Gupta, V.K., Mukherjee, S., Dutta, S.K. and Mukherjee, P. (1992) Diagnostic evaluation of ascitic adenosine deaminase activity in tubercular peritonitis, *J. Assoc. Physicians, India*, 40, 6, 387-389.

162. Rodriguez, J.Z. and Gonzalez, J.G. (1975) Activity of enzymes involved in energy metabolism of Churra breed lambs, and changes caused by enzootic muscular dystrophy, *Annales de la Facultad de Veterinaria de Leon*, 21, 21, 409-419.

163. Cutmore, C.M.M., Snow, D.H. and New Holme, E.A. (1986) Effects of training on enzyme activities involved in purine nucleotide metabolism in Thoroughbred horses, *Equine Vet. J.*, 18, 1, 72-73.

164. Nilius, R., Neef, L., Rath, F.W., Gatzsche, M. and Zipprich, B. (1987) Adenosine deaminase activity as an indicator of inflammation in liver disease, *Dtsch. Z. Verdau.*

Stoffwechselkr, 47, 5, 224-229.

165.Rodriguez, A.S., Perez, J.H., Sanchez, J.R., Fuentes, D.S., Gonzalez, J.A. and et al (1989) Enzymatic activity of serum adenosine deaminase in different liver disease, An. Med. Interna, 6, 6, 300-304.

166.Goldberg, D.M., Ellis, G. and Word, A.M. (1976) A diagnostic triad for portal cirrhosis, Clin. Chim. Acta, 72, 3, 379-382.

167.Deng, Y.Q. (1994) Correlation between serum adenosine deaminase, peripheral T lymphocyte subsets and syndnome types of traditional chinese medicine in liver cirrhosis patients, Chung. Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih, 14, 3, 148-149.

168.Kobayashi, F., Ikeda, T., Marumo, F. and Sato, C. (1993) Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease, Am. J. Gastroenterology, 88, 2, 266-271.

169.Ellis, G., Goldberg, D.M., Spooner, R.J. and Word, A.M. (1978) Serum enzyme tests in diseases of the liver and biliary tree, Am. J. Comp. Path., 70, 2, 248-258.

170.Gromashevskaiia, L.L., Shkurova, O.S., Kasatkina, M.G., Onoiko, V.K. and Tal'ko, V.V. (1978) Enzyme activity during regeneration under acute and chronic liver lesion with CCL₄, Ukr. Biokhim., 2h, 50, 4, 465-470.

171.Hromashevs'ka, L.L., Magarlamov, A.H. and Shkirova, O.S. (1976) Enzymes participating in the formation of ammonia in various experimental liver diseases, Ukr. Biokhim., 2h, 48, 1, 96-101.

172.İmren, H.Y. (1997) İç Hastalıklarına Giriş, 2. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.

173.Glick, D. (1965) Enzymatic methods used for diagnosis, Methods of biochemical analysis Vol. XIII, Interscience Publishers, Johnwiyeldsens, 344-345.

174.Giusti, G. (1974) Enzymes activities, Methods of enzymatic analysis, Ed. Bergmeyer U.H., Verlag Chemia Gmbllt Weinheim, Bergest, 21092-21098.

175.Hayran, M. ve Özdemir, O. (1995) Bilgisayar, İstatistik ve Tıp, Medikomat Basımevi, Ankara.

176.Turgut, K. (1995) Veteriner Klinik Laboratuvar teşhis, Özel Baskı, S.Ü. Vet. Fak., Konya, 153-206.

177.Thomburg, L.P. (1998) A study of canine hepatobiliary diseases, 2. The use and misuse of liver enzymes and function tests, 2. Biliary diseases, Companion animal Practice, 4, 5, 16-21.

178.Sutherland, R.J., Deol, H.S. and Hood, P.J. (1992) Changes in plasma bile acids,

plasma amino acids and hepatic enzyme pools as indices of functional impairment in liver damaged sheep, *Vet. Clin. Pathology*, 21, 2, 51-56.

179. Turgut, K. ve Ok, M. (1997) *Veteriner Gastroenteroloji*, S.Ü. Vet. Fak., Özel Baskı, Konya, 208-260.

180. Tütüncü, M. (1998) Köpeklerde deneysel oluşturulan karaciğer toksikasyonlarında klinik, hematolojik, biyokimyasal ve ultrasonografik bulgular, *Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Enst.*, Van.

181. Ogawa, M., Mori, T., Mori, Y., Ueda, S., Azemoto, R. and et al. (1992) Study on chronic renal injuries induced by Carbon Tetrachloride: Selective inhibition of the Nephrotoxicity by irradiation, *Nephron*, 60, 68-73.

182. Fregia, A. and Jensen, D.M. (1994) Evaluation of abnormal liver tests, *Compr. Ther.*, 20, 1, 50-54.

183. Uno, Y., Saitoh, H., Ying, H., Tamai, Y., Ono, F. and et al (1996) Enzymes in intestinal juice from patients with liver diseases and colon polyps; measurement of bilirubin, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase, *Tohoku J. Exp. Med.*, 178, 2, 163-168.

184. Shull, R.M., Tasker, J.B. ad Hiltz, F.L. (1978) A computerized retrospective study of liver enzyme concentrations in dogs, *Vet. Clin. Pathology*, 7, 2, 13.

185. Volek, V. and Stepan, J. (1977) The source and clinical significance of alkaline phosphatases in liver diseases, *Acta Univ. Carol.*, 78 Pt 2, 55-58.

186. Keller, P. (1979) Enzyme activities in small domestic animals: organ analyses, plasma levels and intracellular distribution, *Kleintierpraxis*, 24,2, 51-56.

187. Winkel, P., Romsoe, K., Lyngbye, J. and Tygstrup, N. (1975) Diagnostic value of routine liver tests, *Clin. Chem.*, 21, 1, 71-75.

188. Pappas, N.J. (1981) Response of rat liver aspartate aminotransferase to carbon tetrachloride, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 31, 3, 475-482.

189. Paulova, J., Dvorak, M., Kolouch, F., Vanova, L. and Janeckova, L. (1990) Verification of the hepatoprotective and therapeutic effect of silymarin in experimental liver injury with tetrachloromethane in dogs, *Vet. Med. (Praha)*, 35, 10, 629-635.

190. Baba, E. and Matsuda, H. (1987) Intermediate stage cirrhosis in a dog with extreme hypoalbuminaemia, *Clinical Insight*, 11, 2, 632-633.

191. Hayasaka, A., Koch, J., Schuppan, D., Maddrey, W.C. and Hahn, E.G. (1991)

The serum concentrations of the aminoterminal propeptide of procollagen type III. and the hepatic content of mRNA for the ALPha 1 chain of procollagen type III.in carbon tetrachloride induced rat liver fibrogenesis, *J. Hepatology*, 13, 3, 328-338.

192.Okuno, M., Muto, Y., Kato, M., Moriwaki, H., Noma, A. and et al (1991)
Changes in serum and hepatic levels of immunoreactive prolyl hdroxylase in two models of hepatic fibrosis in rats, *J. Gastroenterol-Hepitol.*, 6, 3, 271-277.



11. ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Ankara'nın Şereflikoçhisar ilçesinde doğdu. İlk, orta, lise tahsilini Şereflikoçhisar'da tamamladı. 1989 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı ve 1994 yılında mezun oldu. 1996 yılı kasım ayında askerlik hizmetini yedek subay olarak yaptı. 1997 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında Yüksek Lisans çalışmalarına başladı.

