

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL ETİLEN GLİKOL ZEHİRLENMESİ OLUŞTURULAN
RATLARDA KALP KASI HASARININ ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Burak DOĞAN**

**Danışman
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ**

Yüksek Lisans Tezi

**Haziran 2019
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL ETİLEN GLİKOL ZEHİRLENMESİ OLUŞTURULAN
RATLARDA KALP KASI HASARININ ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Burak DOĞAN**

**Danışman
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2018-8340 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2019
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Deneysel Etilen Glikol Zehirlenmesi Oluşturulan Ratlarda Kalp Kası Hasarının Araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Burak DOĞAN

Danışman
Vehbi GÜNEŞ

Veteriner İç Hastalıkları ABD Başkanı
Vehbi GÜNEŞ

KABUL ve ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ danışmanlığında, **Burak DOĞAN** tarafından hazırlanan “**Deneyssel Etilen Glikol Zehirlenmesi Oluşturulan Ratlarda Kalp Kası Hasarının Araştırılması**” adlı çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner İç Hastalıkları** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

01.06.2019

JÜRİ**İMZA**

Danışman: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Üye: Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Üye: Prof. Dr. Hidayet Metin ERDOĞAN

Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında hoşgörüsünü ve çalışmalarımı alakalı her türlü desteği sunan danışman hocam Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ'e, hayvanların tedarik edilmesi, çalışma ortamının sağlanması ve hayvanlardan örneklerin alınması ile ilgili her türlü yardımı yapan DEKAM personeli Veteriner Teknisyenleri Hasan YÜCE ve Fatma Mermer DERİN'e çalışmam esasında görev yaptığım Sivas Ulaş Tarım ve Orman Müdürlüğü müdürüm ve mesai arkadaşlarıma, tezimin ELISA analizlerinin yapımında yardımcı olan Doktora öğrencisi Murat VURUCU'ya, ve ELISA sonuçlarını değerlendiren Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı uzmanlarından Ayşegül ALTUN'a çalışmam ile ilgili her sorunda bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen ERÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Prof. Dr. İhsan KELEŞ ve Araştırma Görevlisi Gencay EKİNCİ'ye, kalp dokularının histopatolojik işlemlerinin yapılması ve sonuçlarının değerlendirilmesi konusunda bana yardımcı olan ERÜ Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof Dr. Latife ÇAKIR BAYRAM'a, tezimin maddi desteğini sağlayan ERÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve çalışanlarından Derya KARAKAYA'ya ve yüksek lisansımı bitirmem konusunda heyecanını ve desteğini her zaman hissettiren canım eşim Kübra DOĞAN'a yürekten teşekkürlerimi borç bilirim.

DENEYSEL ETİLEN GLİKOL ZEHİRLENMESİ OLUŞTURULAN RATLARDA KALP KASI HASARININ ARAŞTIRILMASI

Burak DOĞAN

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2019

Danışman: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, deneysel etilen glikol (EG) toksikasyonu oluşturulan ratlarda kalp kasi oluşabilecek yaptığı tahribatın boyutunu araştırmaktır. Bu amaçla, Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DEKAM) bulunan Sprague Dawley cinsi 30 adet erkek ve dişi rat çalışma materyalini oluşturmuştur. Tüm ratlar rastgele üç gruba ayrılarak gastrik gavajla EG verilerek toksikasyon oluşturuldu. Birinci gruba 6000 mg/kg EG serum fizyolojikle (SF) sulandırılarak verilirken, ikinci gruba 3000 mg/kg EG verildi. Kontrol amacıyla SF üçüncü gruptaki ratlara verildi. Kan örnekleri 0 ve 72. saatte kuyruk venasından 96. saatte alınan örnekler ise doğrudan kardiyak punksiyonla alındı. Toksikasyon sonucu genel durumu bozulan hayvanlarda EKG ölçümleri yapılmıştır. Etilen glikol verildikten yaklaşık 5 saat sonra idrar örnekleri alınarak sedimentasyon analizleri gerçekleştirildi. Ayrıca 96. Saatte nekropsi yapılarak ratların kalpleri kardiyak histopatolojik analizler için alındı. Yapılan biyokimyasal analizlerde bazı parametrelerin toksikasyon oluşturulan ratlarda saatler ilerledikçe anlamlı şekillerde arttığı (üre, Laktat Dehidrogenaz, glikoz, kreatinin), kalsiyum düzeylerinin ise azaldığı görülmüştür. Kalp biyomarkırlarından cTn-T ve CK-MB seviyeleri toksikasyon oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre farklı seyrettiği görülmüştür. Ancak cTn-I seviyelerinde ise bir farklılık görülmemiştir. Ayrıca idrar analizlerinde Ca-oksalat kristalleri tespit edilmiştir. Verilen doza bağlı olarak parametrelerdeki değişimler ve mortalite düzeylerinin daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmada hedeflendiği şekilde ve elde edilen bulgular ışığında EKG ve histopatoloji bulguları alınan miktarlara göre değişmekle birlikte EG zehirlenmesinde orta dereceli bir miyokard hasarının olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Rat, etilen glikol, toksikasyon, gavaj, miyokard, Ca-oksalat

INVESTIGATION OF HEART FAILURE IN THE RATS THAT HAVE EXPERIMENTAL ETHYLENE GLYCOL TOXICITY

Burak DOĞAN

Erciyes University, Institute of Health Sciences

Department of Veterinary Internal Diseases

M.Sc. Thesis, June 2019

Supervisor: Prof.Dr. Vehbi GÜNEŞ

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the extent of the destruction due to toxicity in heart muscle and blood biomarkers in rats with experimentally induced ethylene glycol (EG) toxication. For this purpose, 30 male and female rats of Sprague Dawley type which were found in Erciyes University Experimental Research Application and Research Center (DEKAM) formed the study material. All rats were randomly divided into three groups and given toxicity with gastric gavage. The first group was given 6000 mg/kg EG dilute with saline (SF), the second group was given 3000 mg/kg EG and the only saline was given at same volume with EG as control group. Blood samples were taken from the tail vein at the 0 (before EG) and 72 th hours at the 96th hour and taken directly cardiac puncture. ECG measurements were performed at the specific time in animals. This ECG findings deteriorated as a result of toxicology. Urine samples were taken and sedimentation analyzes were performed approximately 5 hours after EG was given. In addition, necropsy was performed at 96 hours and the hearts of rats were taken for cardiac histopathological analysis. In biochemical analyzes, it was observed that some parameters increased significantly in rats (urea, LDH, glucose, creatinine) and calcium levels decreased. cTn-T and CK-MB levels of heart biomarkers were found to be different in groups that formed toxicity compared to control group. However, there was no difference in cTn-I levels. In addition, Ca-oxalate crystals were detected in urine analysis. The changes in parameters and mortality levels were similar to those of previous studies. In the light of the findings obtained in this study, ECG and histopathology findings showed that a moderate myocardial injury occurred in EG poisoning.

Keywords: Rat, ethylene glycol, toxication, gavage, myocardium, Ca-oxalate

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
KABUL ve ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR.....	xi
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Etilen Glikol (EG)	3
2.1.1. İnsanlarda ve Hayvanlarda Etilen Glikol Toksikasyonu	4
2.1.2. Toksikokinetik	6
2.1.3. Klinik Görünüm	8
2.1.4. Teşhis	10
2.1.5. Tedavi.....	15
2.1.6. Prognoz.....	16
2.2. Veteriner Hekimlikte Kardiyak Hasarın Tanısında Kullanılan Biyomarkırlar ...	17
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	22
3.1. Kullanılan Denek Cinsi Sayısı ve Dağılımı	22
3.2.Klinik Muayeneler	22
3.3. Kan ve Miyokard Örneklerin Toplanması	22
3.4. Hematolojik Analizler	22
3.5. Biyokimya Analizleri.....	23

3.6. İdrar Analizleri	23
3.7. cTn-I ELISA Analizi	23
3.8. İstatistik Analizler	24
4. BULGULAR	25
4.1. Klinik Muayene Bulguları	25
4.2. Hematolojik Bulgular	28
4.3. Biyokimyasal Bulgular	29
4.4. Kalp Biyomarkır Bulguları	31
4.5. İdrar Analizi Bulguları.....	34
4.6. Elektrokardiyografi Analiz Bulguları.....	35
4.7. Kardiyak Histopatolojik Bulgular	36
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	38
6.KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ.....	72

TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

Şekil 2.1: Etilen Glikol ve Türevlerinin Kimyasal Yapısı	4
Şekil 2.2: Etilen Glikol Metabolizması	8
Şekil 3.1: ELİSA Analizleri İçin Elde Edilmiş Standart Eğri.....	24
Şekil 4.1: Çalışma Gruplarında Kan Serumunda CK-MB Düzeylerinin Grafik ile Gösterimi	32
Şekil 4.3: Çalışma Gruplarında Kan Serumunda cTn-I Düzeylerinin Grafik ile Gösterimi	33
 Tablo 2.1: Etilen Glikole Maruz Kalan Kedi ve Köpeklerde Klinik Belirtiler ve Oranları.....	10
Tablo 2.2: Serum Kardiyak Belirteçleri	20
Tablo 2.3: Köpeklerde Farklı Çalışmalarda Saptanan cTn-I Sonuçları	21
Tablo 4.1: Etilen Glikol Verilen Ratlarda Görülen Semptomlar	26
Tablo 4.2: Gruplardaki Ortalama Kan Parametreleri Düzeyleri.....	28
Tablo 4.3: Çalışma Gruplarında Ortalama Glukoz, BUN, Kreatinin, GGT, LDH, AST, ALP, Na,K,Cl,Total Protein ve Albumin Düzeyleri Değişimleri	30
Tablo 4.4: Gruplardaki Ortalama Kardiyak Biyobelirteç Düzeyleri.	31
 Resim 2.1. Etilen Glikol ile Zehirlenen Köpeğin Sağ Böbreğinin Tekerlek Görüntüsü	13
Resim 2.2: Renal Tübüllerde Akut Tübüler Nekroz ve Tübüler İçerisinde Görülen Çift Kırılğan Ca-okzalat Kristalleri (Renal Biyopsi)	14
Resim 2.3: Etilen Glikol ile Zehirlenen Köpekte Böbreklerinin Makro Anatomik Görünüm.....	15
Resim 4.1: Gastrik Gavaj Uygulaması	26
Resim 4.2: Etilen Glikol Uygulamasından Sonraki 5. Saat Klinik Görünümü (Grup II).	27
Resim 4.3: Etilen Glikol Uygulamasından Sonraki 2. Gün Klinik Görünümü (Grup II).	27

Resim 4.4: Etilen Glikol Uygulamasından Sonraki 3. Gün Klinik Görünümü (Grup II).

..... 28

Resim 4.5: Etilen Glikol Uygulamasından Alınan İdrar Örneklerinde Meydana. 34

Gelen Ca-oksalat Kristalleri ve Amorf Kristalleri Görünümü (Monohidrat formu).34

Resim 4.6: Etilen Glikol Uygulamasından Alınan İdrar Örneklerinde Meydana. 35

Gelen Ca-oksalat Kristalleri Görünümü (Dihidrat formu)..... 35

Resim 4.7: Grup I ve Grup II'deki Ratlarda EKG Uygulaması..... 35

Resim 4.8: Grup I'deki Ratlarda EKG Örneği 36

Resim 4.9: Grup II'deki Ratlarda EKG Örneği 36

Resim 4.10: Etilen Glikol Toksikasyonu, Rat, Kalp Biyopsi. 37

KISALTMALAR

ADH: Alkol Dehidrogenaz

ALP: Alkalen Fosfataz

ALT: Alanin Aminotransferaz

ANP: Atrial Natriüretik Peptit

AST: Apartat Aminotransferaz

BNP: B-tipi Natriüretik Peptit

BUN: Kan Üre Nitrojen

Ca: Kalsiyum

CK-BB: Kreatin Kinaz (beyin izomeri)

CK-MB: Kreatin Kinaz (Kalp izomeri)

CK-MM: Kreatin Kinaz (iskelet ve kalp izomeri)

Cl: Klor

CRP: C-reaktif Protein

cTn-I: Kardiyak Troponin I

cTn-T: Kardiyak Troponin T

DEKAM: Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

EG: Etilen Glikol

EKG: Elektrokardiyografi

GC: Gaz Kromatografisi

GGT: Gama Glutamil Transferaz

GİS: Gastrointestinal Sistem

GRAN: Granulosit

HCT: Hematokrit

HGB: Hemoglobin

K: Potasyum

LD: Letal Doz

LDH: Laktat Dehidrogenaz

LDH/ α -HBDH: Laktat Dehidrogenaz/ α -hidroksibütirat Dehidrogenaz

LYM: Lenfosit

mAb: Monoklonal Antikor

MCH: Ortalama Hücre Hemoglobini
MCHC: Ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu
MCV: Ortalama Hücre Hacmi
MONO: Monosit
MPV: Ortalama Trombosit Hacmi
MSS: Merkezi Sinir Sistemi
NAD: Nikotinamid Adenin Dinukleotid
OEL: Mesleki Maruziyet Sınırı
PG: Propil Gallat
PLT: Trombosit Sayısı
RBC: Kırmızı Kan Hücresi
RDW_a: Kırmızı Kan Hücrelerinin Dağılım Genişliği
SF: Serum Fizyolojik
SGOT: Serum Glutamik Oksaloasetik Transaminaz
UV: Ultraviyole
WBC: Beyaz Kan Hücresi

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda insanların ihtiyaçları için üretilen bazı kimyasal maddelerin bilinçsiz bir şekilde kullanılması çevreye zarar vermeye başlamıştır. Çevre kirlenmesine ve bazı zehirlenmelere neden olan bu kimyasallardan birisi de başlıca antifriz şeklinde kullanılan Etilen Glikol'dür. Antifriz ile doğrudan temas eden ve bu maddeyi çeşitli yollarla (özellikle oral) alan kedi, köpek, ruminantlar, kanatlı, vb. hayvanlarda EG zehirlenmelerine sıklıkla rastlanılmaktadır (Güneş, 1999; Çelebi ve ark.,1999).

Oral yolla alınan EG, sindirim sisteminde emildikten 2-3 saat sonra kanda en yüksek dozlara ulaşmaktadır. Daha sonra ise karaciğer tarafından karbondioksit ve suya kadar parçalanmakta, karaciğerde alkol dehidrogenaz enzimi yardımı ile glikolik asite metabolize edilmekte veya değişikliğe uğramadan böbrekler tarafından atılmaktadır (Thrall ve ark., 2008; Ünsüren ve ark., 1987). Oluşan asidik ürünlerden dolayı EG toksikasyonunda önemli bozukluklar meydana gelmektedir. Bu bozukluklardan birisi metabolik asidozis diğeri ise Ca-oksalat kristalleri tarafından böbreklerde oluşan tahribata bağlı olarak meydana gelen akut renal yetmezliktir (Çelebi ve ark., 1999; Thrall ve ark., 2008).

EG'ün zehirli etkisi türlere göre değişmekle beraber, letal dozlar köpeklerde 6.6–13.4 ml/kg, kedilerde 1.5 ml/kg, kanatlılarda 6.7 ml/kg, ratlarda 5.5–7.7 ml/kg, tavşanlarda 9 ml/kg olarak belirtilmiştir (Çelebi ve ark., 1999; Thrall ve ark., 2008). Toksikasyona maruz kalan hayvanlarda klinik bulgular genel olarak merkezi sinir sistemi (MSS), gastrointestinal sistem (GİS) ve böbreklerin fonksiyon bozuklukları ile karakteristiktir. Anoreksi, ataksi, depresyon, kusma, üremi, oral ülser ve oligüri toksikasyonda ortak görülen bulgulardır. EG toksikasyonu oluşan hayvanlarda, acil müdahale edilmesi gerekmektedir. Bu maksatla yapılması gerekenler; EG'ün emiliminin önüne geçmek, antidotlarla etkisizleştirmek, vücuttan uzaklaştırılmasını hızlandırmak ve semptomatik müdahale tedavinin temelini oluşturur. Toksikasyonun

prognozu, EG alımı süresi ve dozuna bağlı olarak değişebilmekte ve erken müdahale edilmediğinde çoğunlukla ölümlerle sonuçlanmaktadır (Alkan ve ark., 1995).

Bireylerde klinik olarak yapılan araştırmalar sonucunda, EG'ün sinirsel etkiler (MSS bozuklukları), metabolik asidozis ve Ca-oksalat kristallerinin böbreklerde meydana getirdiği tahribat bilinmektedir. Ayrıca kardiyovasküler sisteme ait önemli etkileri olduğu belirtilmesine rağmen kalp kası hasarı ve dolaşım sistemlerinde yaptığı detaylı etkiler hakkında çok fazla bir bilgi bulunmamaktadır (Güneş, 1999; Cavender, 2012). Bu nedenle antifriz zehirlenmesi sonrası deney hayvanlarında, kalp kası hasarı oluşumunun makroskopik lezyonların izlenmesi ve histopatolojik bulgular ile kalp kası biyobelirteçlerinin (cTnI, cTnT, CKMB) ve elektrokardiyografi (EKG) parametrelerinin akut zehirlenmelerin prognozu ve patogeneze katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

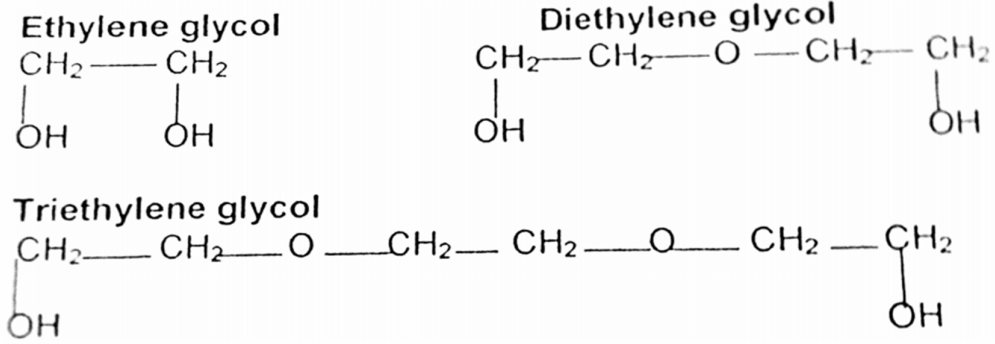
Bu maksatla iki farklı dozda deneysel antifriz zehirlenmesine maruz bırakılan ratların kalp dokusunda görülen peteşi kanamalar ve yangı odakları gibi makroskopik değişikliklerin araştırılması ile akut olarak zehirlenen hayvanların dolaşım sistemlerinde oluşabilecek bozuklukların belirlenmesi, EKG ve kalp kası biyobelirteçlerinin analiz edilmesi amaçlandı. Bu doğrultuda 30 adet Sprague Dawley ırkı yetişkin ratlar 3 gruba ayrılarak, ilk 2 gruba yüksek ve düşük dozlarda EG verildi. 3. gruptaki ratlar ise kontrol grubu olarak belirlenip serum fizyolojik (SF) verildi. Daha sonra ise tüm gruptaki ratların belirli saatlerde kan ve histopatolojik değişimleri gözlemlendi.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Etilen Glikol (EG)

Glikoller, alifatik zincir yada alisiklik halkada ayrı karbonlara bağlı iki hidroksil grubu hidrokarbonlardır. Bunlar hafif viskoz sıvılardan mumsu katılara kadar değişmekte; suda, alkollerde ve ketonlarda çözünmekte ve hidrokarbonlarda çözünmemektedirler. Düşük buhar basıncına (20 °C de 0.06 mmHg) sahiptir. Bu nedenle ısıtılmadıkça, çalkalanmadıkça yada püskürtülmedikçe solunmasından endişe görülmemektedir. Kısmen kokusuz özellikte olması nedeniyle sadece yüksek konsantrasyonlarda tahriş edici olmasıyla farkedilebilir. Tahriş edici özelliği ve yüksek konsantrasyonlarda meydana getirdiği merkezi sinir sistemi (MSS) depresyonu olasılığı nedeniyle, glikoller için mesleki maruziyet sınırı (OEL) çoğunlukla bir tavan limiti olarak ayarlanır (Cavender, 2012).

Etilen glikol (1-2 ethanediol) yapısal olarak 1.113 yoğunluğa, yüksek kaynama noktası (197.2 °C (326 °F)) ile beraber düşük bir donma noktasına (-12.3 °C (9.86 °F)) ve 62.07 dalton molekül ağırlığına sahip renksiz, saf şekliyle tatlı bir sıvı olmakla birlikte su ve alkol ile karışabilmektedir. % 100 nemlilik oranına sahip ortamlarda ağırlığının iki katı kadar suyu absorbe ettiği bildirilmiştir. Tarihsel olarak ise EG, etilen oksitin hidrolize edilmesiyle üretilmiştir. Etilen glikol genellikle antifriz halinde kullanılmaktadır. Antifriz dışında polyester bileşiklerin imalatında; boya ve plastik endüstrisinde bir çözücü olarak, otomotiv sıvılarında (fren hidroliği, şanzıman sıvıları ve motor yağı), mürekkep ve ahşaplarda bir bileşen olarak kullanılır. Evlerde en kolay bulunabilen EG kaynağı, yaklaşık % 95 etilen glikolden oluşan antifriz solüsyonlarıdır (Güneş, 1999; Cavender, 2012; Bischoff , 2009; Thrall ve Hamar, 2012; Ünsüren ve ark., 1987). Ayrıca farmasötik preparasyonlarda, yiyecek ekstraktlarında, deri losyonlarında ve suni tohumlama teknolojisinde döllenmiş yumurtaların korunmasında kriyoprotektan olarak da kullanıldığı bildirilmiştir (Loskutoff ve ark., 1996). Etilen glikol ve türevlerinin kimyasal yapıları aşağıdaki şekilde gösterilmektedir:



Şekil 2.1: Etilen Glikol ve Türevlerinin Kimyasal Yapısı (Güneş 1999)

EG toksikozu radyatörlerin içerisinde boşaltıldığı dönemlerde ve kullanılmış kapların evcil hayvanların ulaşımına açık olabildiği durumlarda yaygındır. Bu yüzden antifrizlere, acı tat vermesi ve daha az lezzetli hale getirmek için son zamanlarda üretilen ürünlere denatonyum benzoat eklenmektedir (Bischoff, 2009).

2.1.1. İnsanlarda ve Hayvanlarda Etilen Glikol Toksikasyonu

Erişkin insanlarda, akut EG zehirlenmelerinin çoğu intihar sebebiyle olmaktadır. Ayrıca şekerli içecekler yerine de yanlışlıkla antifrizlerin içilmesiyle kazara zehirlenmelerine rastlanılmaktadır. EG'ün vücuda alınmasıyla beraber ağır metabolik asidoz, konvülsiyonlardan komaya kadar süren MSS bulguları, kardiyopulmoner bozukluklar ve akut böbrek yetmezliği klinik olarak ortaya çıkar. Özellikle metabolik asidozun şiddetiyle paralel olarak mortalitesi oldukça yüksektir (Sarıtaş ve ark. 2015; Çetinkaya ve ark. ,2001; Dökmeci, 2001). Kronik zehirlenmeler ise çoğunlukla EG buharlarına maruz kalınması sonucunda oluşmaktadır. Kronik zehirlenme vakalarında da böbreklerde kalsiyum okzalat kristallerinin birikimi ile şiddetli renal tubuler nekroz olduğu bildirilmektedir (Soysal ve ark., 1999). Etilen glikolün lethal dozları çocuklarda yaklaşık 1 ml/kg ve erişkinlerde 1,4 ml/kg (70 kg'lık bireylerde yaklaşık 100 ml)'dir (Dökmeci, 2001).

Etilen glikol zehirlenmeleri (1937 yılına kadar) hakkında bilgi tam olarak bilinmemektedir. Ancak ilk vaka olarak 1930 yılında bir kişinin etilen glikole bağlı zehirlendiği bildirilmiştir (Güneş, 1999). Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 40-60

kişinin EG zehirlenmesine bağlı olarak hayatını kaybettiği düşünülmektedir. Tüm zehirlenmelerin yaklaşık % 0.3'ü ve bu zehirlenmelere bağlı ölümlerin % 3'ünün EG zehirlenmesi sonucu meydana geldiği öngörülmektedir. Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Derneği Toksik Maruziyet Denetim Sistemi (American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System)'nin yıllık raporlarından yapılan duyurularda; 1998 yılında 6281 zehirlenme ve ölüm, 2002 yılında 40 ölüm, 2003 yılında en az 23 kişinin ölümü ve 5816 zehirlenme, 2007 yılında 4966 zehirlenme ve 16 ölüm vakasına etilen glikolün neden olduğu bildirmektedir (Aşırdizer ve ark., 2010; Doty ve ark., 2006). Kazara zehirlenmeler dışında EG intihar amacıyla da çokça tercih edilmektedir. Fransa'da 1997 yılında 15 yaşında bir çocuğun dietilen glikol ve trietilen glikol içeren sıvıyla intihar ederek zehirlendiği bilinmektedir (Güneş V, 1999).

EG, hayvanlarda da zehirlenmelere en sık neden olan maddelerden birisidir. Tatlı bir yapısı olan antifrizin % 95'ini oluşturan EG toksikasyonuna özellikle sonbaharda, antifriz kullanımının arttığı dönemlerde daha sık rastlanılmaktadır. Bu zehirlenmelerin artması sonucunda son yıllarda bazı antifriz formüllerde etilen glikolün yerini toksisitesi onun kadar olmayan propilen glikol almıştır (Aytuğ, 2012).

Kedi ve köpeklerde EG zehirlenmeleri, ticari antifrizle direk temas ederek veya oral yolla alınması sonucunda gelişen ve sıklıkla görülen bir durumdur. Akut zehirlenmeler ise genellikle ciddi boyutlarda olup vakaların % 88'den fazlası ölümle sonuçlanmaktadır. Köpeklerde EG'ün oral lethal dozu 6.6-13.4 ml/kg, kedilerde 1.5 ml/kg, kanatlılarda 6.7 ml/kg, ratlarda 5.5-7.7 ml/kg, tavşanlarda 9 ml/kg'dur (Çelebi ve ark., 1999; Thrall ve ark., 2008; Civelek ve ark., 2006; Rusenov ve ark., 2014). Kedi ve köpeklerde oral alımı takiben yaklaşık 1-4 saat içinde kanda konsantrasyonu yüksek seviyelere çıkar (Cope ve Poppenga, 2011). Ruminantlarda ise monogastrik hayvanlara oranla EG toksik etkilerine karşı daha dirençli olduğu düşünülmektedir. Çünkü yetişkin ruminantların büyük miktarda metabolize etme kabiliyeti 5 ila 10 ml/kg, buzağılar için ise 2 ml/kg olduğu bildirilmektedir. Yeterli miktarlarda etilen glikole maruz kalan ruminantlar genellikle yutulduktan 3 ila 4 gün gibi uzun bir süre sonunda hastalanırlar. Bunun sebebi monogastrik hayvanlar tarafından EG alınmasından 48 saat içerisinde emilmesine karşın, ruminantlarda sindirimin yavaş olmasından dolayı klinik belirtiler başladıktan 4 gün sonra bile rumen içeriğinde EG tespit edilmektedir (Plumlee, 2009; Radostits ve ark., 2006).

Tavşanlar üzerinde etilen glikolün etkilerini araştıran Carpenter ve Smyth (1946), gözlerinin içine EG damlatmış ve kayda değer bir tahrişe neden olmadığını bildirmişlerdir. Nagano ve ark. (1979), fareleri EG ile besleyip testis ve kandaki değişimleri gözlemek için 62.5 ila 4000 mg/kg, 5 gün/hafta 5 hafta içinde değişen dozlarda besleme yapmış ancak üzerinde herhangi bir etki gözlemlememiştir. Choi ve ark.(2007), sekonder renal hiperparatiroidizm ve çene kemiklerinde fibröz osteodistrofisi bulunan köpekte, kronik EG zehirlenmesi vakasını gözlemlemiştir. Morris ve ark. (1942) 2 yıl gibi uzun süre % 1-2 EG içeren diyetlerle sıçanları muhafaza ederek yaşam sürelerinin kısaldığını, kalsiyum oksalat taşı, ciddi renal hasarlar, karaciğerin santrilobüler dejenerasyonunu gözlemlemişler.

Evcil hayvan türlerinde bildirilmemiş olmasına rağmen, su kuşlarında antifriz ile zehirlenmelere rastanılmıştır. Bu hayvanlarda bilinen semptomlar ise renal tübüler epitel dejenerasyonu, böbrek ve karaciğer tıkanıklığıdır (Schmidt ve ark., 2015).

2.1.2. Toksikokinetik

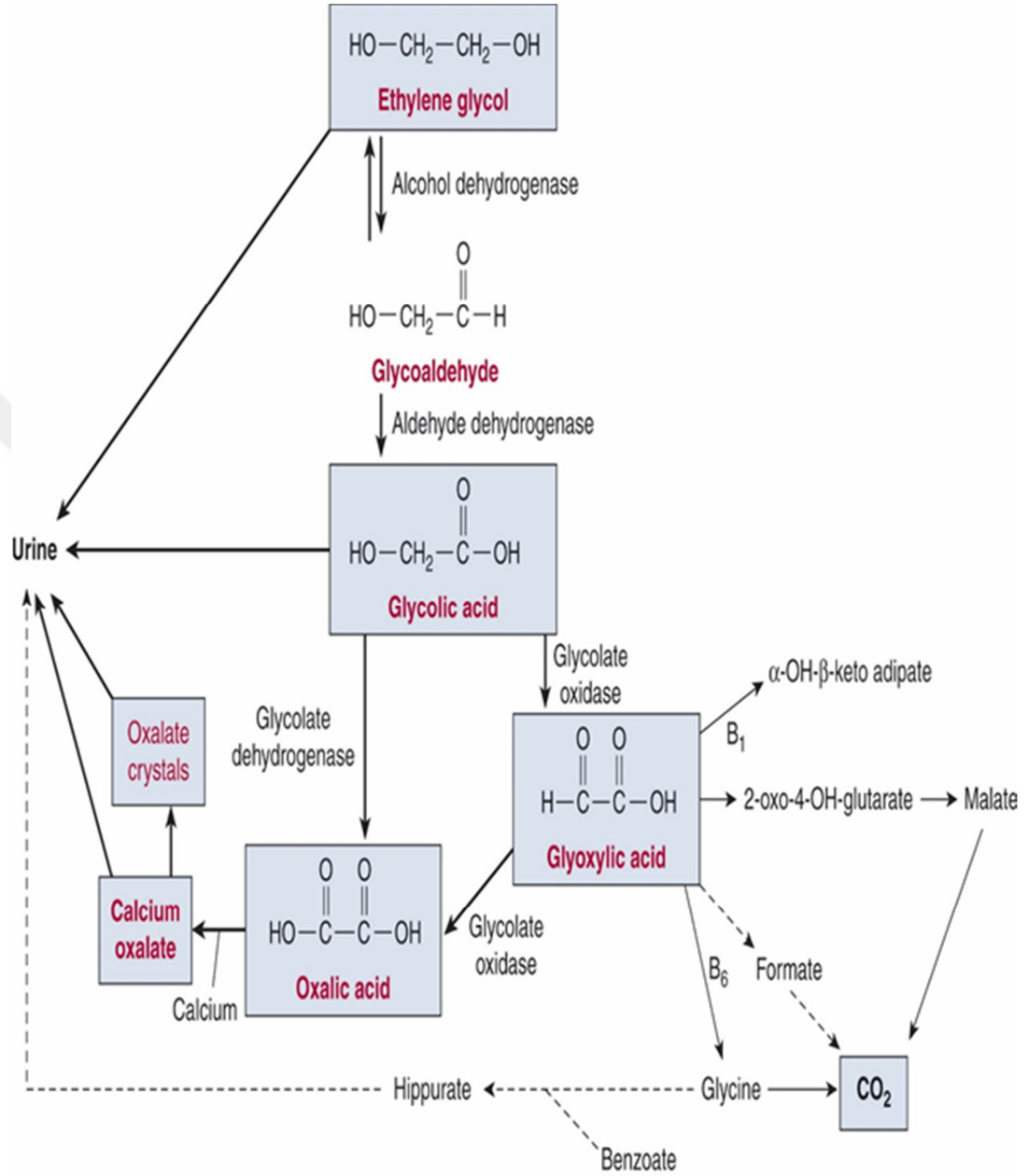
Sindirim kanalı tarafından kolayca emilen EG, deri ve solunum yolu ile ise zayıf olarak absorbe olmaktadır. Deri üzerinde önemli bir etkisi bulunmamaktadır. Genellikle deri yoluyla maruziyetlerde hafif bir maserasyon etkisi dışında bir etki gözlemlendiği bildirilmemiştir. Oral yolla (özellikle aç karnına) alınan EG GİS'den hızla emilerek kanda yüksek düzeye ulaşması 1-4 saat sürer. Tedavi edilmeyen durumlarda ise yarılanma ömrü 3-5 saat arasında değişmektedir. EG'ün metabolitleri 24 saat içinde çoğunlukla idrarda atılır. Metabolizasyonu genel olarak karaciğerde, böbrekte ve midede görülmektedir. Vücuda alınımı sonrası yaklaşık % 80'i karaciğerde hızlı bir şekilde metabolize olmakta, geriye kalan kısmı ise değişikliğe uğramadan böbrekler yoluyla atılmaktadır (Özcan, 2008; Aşırdizer ve ark., 2010; Alkan ve ark., 1995; Bischoff, 2009).

Sindirim yoluyla alınan EG ilk önce nikotinamid adenin dinukleotid (NAD) varlığında alkol dehidrogenaz (ADH) tarafından glikoaldehide; daha sonra sırasıyla glikol aldehit, aldehit dehidrogenaz tarafından glikolik aside okside edilir. Glikolik asit, hayvanlarda metabolik asidoz ve hiperosmolaliteye neden olduğu bilinmektedir. Glikolik asit daha sonra laktat dehidrogenaz ve glikolik asit oksidaz ile glioksolik asite, glioksolik asit ise piridoksin aracılığı ile glisine, tiamin aracılığı ile α -hidroksi- β - ketoadipata, oksalik asite ve formik asit, glisin, hippurik asit, oksalomalik asit ve benzoik asite

dönüşmektedir. EG, kendisi toksik olmamakla birlikte glikolik asit seviyesinden itibaren ortaya çıkan metabolitler (özellikle de glikolaldehit, glikolik asit, glikooksalik asit, formik asit ve oksalik asit) toksik etkinin ortaya çıkmasında rol almaktadırlar. Oksalik asit böbreklerde iyonik kalsiyum ile birleşerek hipokalsemi ve kalsiyum oksalat kristallerinin oluşumuna rol oynar. Bunun sonucunda böbrek tübüllerinin tıkanması ve renal epitel hasarına neden olmaktadır. Bu yüzden de oksalik asit EG'ün en önemli metabolitidir (Cavender, 2012; Bischoff, 2009; Thrall ve Hamar, 2012; Dökmeci, 2001; Plumlee, 2009; Aşırdizer ve ark., 2010).

Böbrek yetmezliğinden asıl sorumlusu olan ve EG metabolitlerinin % 2'sinden daha azını oluşturan oksalat kristalleri ve diğer metabolitlerle alakalı çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Oksalat kristalleri aynı zamanda leptomenengial damarlarda çökerek kimyasal leptomenenjitte neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kalsiyum kristalleri halinde böbrekte, beyinde, kalpte ve pankreasta görülebilmektedir (Çetinkaya ve ark., 2001; Cavender, 2012).

Etilen glikolün emilen miktarının % 22'sini oluşturan kısmı, birkaç saat içerisinde idrarda değişmeden atılır. Metabolizmanın son ürünü olan karbondioksit de akciğerlerden hızla atılır ve bu alınan etilen glikolün büyük bir kısmını oluşturur. Tuz formundaki glikolik asit da (alınan dozun % 34-44'üne eşdeğer) idrar yoluyla atılır. Bunun dışında idrarda, glikolaldehite ve glyoxylic asite ise rastlanılmamaktadır. Oksalik asitin ise bazı olgularda idrarla atılabildiği bildirilmektedir. Bu miktarlar, türlere ve doza bağlı olmaktadır (Cavender, 2012). Hewlett ve ark. (1989), sıçanlarda ve köpeklerde EG için yarılanma ömrünün sırasıyla 1.7 ve 3.4 saat olduğunu, plazmada EG konsantrasyonu 2 saat ve glikolat konsantrasyonu yaklaşık 5 saat zirve yaptığını bildirmiştir. Marshall ve Cheng (1980) ise radyoaktif eliminasyonunun dominant yollarının CO₂ ve idrarda % 14-26 olarak % 55-70 olduğunu yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Etilen glikol metabolizmasını gösteren Şekil 2 aşağıda sunulmuştur.



Şekil 2.2: Etilen Glikol Metabolizması (Bruckner ve ark., 2013)

2.1.3. Klinik Görünüm

EG toksikasyonunu genel olarak klinik bulgularına göre değerlendirmek gerekmektedir. Ayrıca bu zehirlenmelerde prognozun EG yutulmasından sonra geçen süreler bakımından çok önem arzettiği ve klinik belirtilerin hızlı bir şekilde yorumlanmasıyla birlikte tedavi aşamasına geçilmesi gerekmektedir.

EG'ün hayvanlar tarafından yutulmasından yaklaşık bir saat sonra osmolal gap oluşur ve genellikle ilk 18 saat içerisinde azalma meydana gelmektedir. Anyon gap ise birkaç saat içinde artar ve bu artış 48 saat boyunca devam edebilmektedir (Bischoff, 2009).

EG zehirlenmesinin etkileri, metabolize olurken göstermiş olduğu belirtilere göre üç farklı aşamada değerlendirilmektedir. Bu aşamaların şiddeti ve bir aşamadan diğerine ilerleme, vücuda giren EG miktarına bağlı olmakla birlikte bu aşamalar sırasıyla;

1. Merkezi Sinir Sistemi Belirtileri

2. Kardiyopulmoner Belirtiler

3. Renal Bozukluklar

Birinci aşama MSS etkileriyle oluşmaktadır. Bu aşama genellikle maruz kaldıktan kısa bir süre sonra yani 30 dakika içinde gerçekleşebilmektedir ve 12 saate kadar sürebilir. İlk olarak MSS etkileri, alkol zehirlenmesine benzer belirtiler gösterir (Güneş, 1999; Cavender, 2012; Lee, 2017). Ancak nefeste alkolik bir koku bulunmamaktadır. Köpeklerde poliüri ve polidipsi gözlenirken kediler sıklıkla poliüriktir. Daha sonra ise belirtiler bulantı veya kusma ile kendini göstermektedir. Büyük dozlar alınmış ise koma, konvülsiyon ve ölümle sonuçlanabilmektedir. Diğer semptomlar ise; hafif hipotansiyon, taşikardi, düşük dereceli ateş, depresif refleksler, generalize veya fokal nöbetler, miyoklonik sarsıntı ve tetanik kasılmalar olarak ortaya çıkabilmektedir. Bu belirtilere ek olarak nistagmus, göz kası felci, papilla ödemi ve optik atrofi gibi oküler bulgular bildirilmiştir. İlk aşama genellikle henüz metabolize olmamış etilen glikole bağlı olup MSS etkilerine neden olur. Diğer bulgular ise metabolik ürünlere bağlı olarak meydana geldiği düşünülmektedir (Cavender, 2012; Bischoff, 2009).

İkinci aşama (kardiyopulmoner aşaması) genellikle kardiyopulmoner etkiler ile karakterize olup yutulmasından 12-36 saat arasında meydana gelmektedir. Kan biyobelirteçlerinde genel olarak orta derecede lökositoz ($10-40.000/\text{mm}^3$), ile ortaya çıkar. Serum sodyum bikarbonat seviyeleri genellikle düşer ve 10' dan büyük bir anyon gap oluşur. Genelde asidozla birlikte hiperkalsemi bulunmaktadır. Ayrıca hipokalsemi de görülebilmektedir. Kedilerde genellikle pelvik inkoordinasyon görülür. Bu aşama ayrıca taşipne, taşikardi, hafif hipotansiyon ve siyanoz gibi semptomlarla karakterizedir. Ciddi olgularda pulmoner ödem, bronkopnömoni, kardiyopulmoner arrest ve konjestif kalp yetmezliği görülür. Genellikle ölüm maruz kalındıktan sonra 24 ila 72 saat arasında meydana gelir (Cavender, 2012; Bischoff, 2009).

Tablo 2.1: Etilen Glikole Maruz Kalan Kedi ve Köpeklerde Klinik Belirtiler ve Oranları (Güneş, 1999; Dial ve ark., 1989)

	Köpek Sayı (%)	Kedi Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
Merkezi Sinir Sistemi			
Depresyon	20(83)	23(89)	43(86)
Ataksi	16(67)	15(58)	31(62)
Koma	10(42)	5(19)	15(30)
Ani Nöbetler	9(38)	2(8)	11(22)
Kas Titremeleri	1(4)	4(5)	5(10)
Kafa Tremorları	0(0)	2(8)	2(4)
Nystagmus	0(0)	1(4)	1(2)
Sindirim Sistemi			
Anoreksi	18(75)	23(98)	41(82)
Kusma	13(54)	10(39)	23(46)
Oral Ülserler	7(29)	6(23)	13(26)
Salivasyon	7(29)	4(15)	11(22)
Üriner Sistem			
Oligüri	8(33)	5(19)	14(28)
Anüri	7(29)	6(23)	13(26)
Abdominal Ağrı	1(4)	5(19)	6(12)
Poliüri	1(4)	2(8)	3(6)
Polidüipsi	1(4)	1(4)	2(4)

İlk iki aşamada hayatta kalmayı başaran hayvanlar akut böbrek yetmezliğiyle karakterize olan üçüncü ve son aşamaya girer. Bu aşamada hayvanlar oliguriden anüriye doğru ilerler. Kedilerde yapılan palpasyonda genellikle büyük ve ağırlı böbrekleri mevcuttur. İdrar analizinde genellikle proteinüri, mikroskobik hematüri, piyüri ve silindürü ile düşük özgül ağırlık gösterir. Bazı durumlarda idrarda Ca-oksalat ve hippurik asit kristalleri görülür. Ca-oksalat kristalleri iki çeşit görülmektedir. Bunlar dihidrat çadır şeklinde ve monohidrat prizma şeklindedir. Dihidrat formu sadece yüksek üriner kalsiyum ve oksalat konsantrasyonları sırasında ortaya çıkar (Cavender, 2012; Bischoff, 2009).

2.1.4. Teşhis

Akut EG zehirlenmeleri acil müdahale edilmesi gereken ve kısa zamanda teşhis edilip uygun tedaviye başlanması gereken bir durumdur. Bu durum hastanın prognozu

açısından büyük öneme sahip olmakta ve hastanın daha kısa sürede eski haline gelmesi bakımından önemlidir. Bu tip zehirlenmelerde öncelikle klinik semptomlar görülmeye başlamasıyla beraber EG zehirlenmesinden şüphelenilerek hareket edilmekte ve çeşitli spesifik testler ve laboratuvar bulgularıyla birlikte kesin teşhis konulmaktadır.

Tedavide başarılı olmanın anahtarı hastanın azotemik hale gelmesinden önce tanıyı doğrulamakla mümkündür. Azotemi genellikle emilimden sonra 24 saat içerisinde görülmez. Bu yüzden amaç azotemik olmayan hastaların akut böbrek yetmezliğini teşhis edebilmektir. Bunu başarmak için çeşitli yollar mevcuttur;

- UV floresan lamba ile ağız ve çevresi, kusmuk, idrar vb. de antifriz varlığının tespiti,
- idrarda kalsiyum oksalat monohidrat kristallerinin tespiti (kedilerde yutulmasından 3 saat sonra, köpeklerde 6 saat sonra mevcuttur),
- artan serum osmolalitesi,
- artan serum osmol boşluğu (yutmadan sonraki ilk saatte ortaya çıkar),
- artan anyonik gap,
- kullanımı kolay olan spesifik test kitleri (Meuten, 2012).

Ayrıca toksik miktarların emilmesinden sonraki 3 saat içerisinde ise metabolik asidosis, artan anyonik gap, düşük pH'lı isostenürik idrar ve serum hiperosmolalitesi görülmesiyle erken laboratuvar bulguları ile teşhis edebilmek mümkündür. Buna ek olarak yutulmasından sonraki ilk 3 saat içinde FE_{Na} artmaktadır (Meuten, 2012; Güneş, 1999).

EG maruziyetini doğrulamak için çeşitli analitik testler kullanılmaktadır. Ancak bu ticari test kitlerinden bazıları PG, gliserol, sorbitol, etanol, evcil hayvan gıdalarında ve ilaçlarda bulunabilen diğer bileşiklerle çapraz reaksiyona girmek suretiyle yanlış sonuçlar verebilmektedir. Ticari kitlerin 15 dakika içinde serumda gerçekleşen renk değişikliği ile etilen glikolü algılamasıyla çalışmaktadır. Ayrıca mevcut test kitleri 0.6 mg/dl'nin altındaki konsantrasyonlarda EG varlığını saptayamamakta ve vücutta bulunan EG metabolitlerini tespit edememektedir. Ayrıca ana bileşiği tanınması dolayısıyla EG metabolizmasının hızlı olması nedeniyle yutulmasından 12 saat sonra toplanan örneklerde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (Meuten, 2012; Bischoff, 2009).

Gaz kromatografisi (GC), çeşitli dokularda EG teşhisi amacıyla laboratuvarlarda kan, idrar veya böbrek dokusunu test etmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Buna karşın GC, örneklerin nakliye ve işlemesi süreleri göz önünde bulundurulduğundan çok tercih edilmemektedir. Ayrıca EG tamamen metabolize edilmişse GC'nin yanlış negatif sonuçlar vermesi mümkündür (Cavender, 2012; Bischoff, 2009).

Erken EG toksikozunun teşhisi için bir diğer yol ise serum ozmolalitesinin belirlenmesidir. Dial ve ark. serum ozmolalitesinin, EG alımından 1 saat sonra serum EG konsantrasyonlarına paralel olarak arttığını bildirmiştir. Ölçülen serum ozmolalitesi hesaplanan serum ozmolalitesi ile karşılaştırıldığında, fark osmol veya osmolal gap olarak adlandırılır (Dial ve ark. 1994a,b). Araştırmacılar tarafından önemli rolünün olduğu görülen serum ozmolalitesinin, aşağıdaki formüller ile serum parametreleri kullanılarak hesaplanması yapılmaktadır.

Hesaplanan Osmolalite (mOsm/kg) = $1.86(\text{Na}+\text{K}) + \text{Glukoz}/18 + \text{BUN}/2.8 + 9$

Osmolar Gap = Ölçülen Serum Osmolalitesi (mOsm/kg) – Hesaplanan Osmolalite

Normal serum ozmolalitesi 280-310 mOsm/kg osmol gap ise 10 mOsm/kg' dır. Yutulan antifriz miktarına bağlı olarak yutulmasından 3 saat sonra serum ozmolalitesi 450 mOsm/kg kadar osmolal gap ise 150 mOsm/kg kadar yükselebilir. Osmolalitenin ölçülmesinin mümkün olmadığı durumlarda ise kandaki EG miktarının bilinmesiyle pratik olarak osmolalite ölçülebilmektedir. Kandaki EG konsantrasyonunda her 100 mg/dl artış serum ozmolalitesinde yaklaşık 16 mOsm/kg kadar etkide bulunmaktadır (Güneş, 1999; Cavender, 2012; Thrall ve Hamar, 2012).

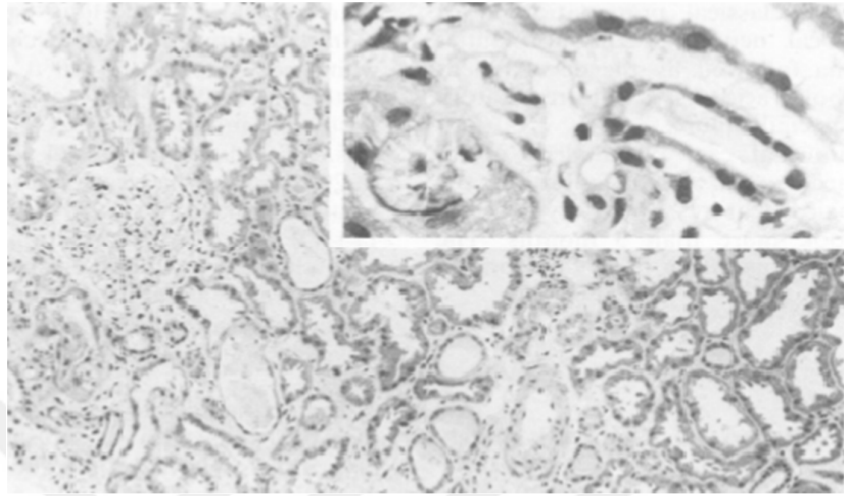
Erken EG zehirlenmesinin saptanmasında yardımcı olabilecek diğer bir tanı prosedürü de wood lambası altında ağız boşluğunun, yüzün, patilerin, kusmuğun ve idrarın incelenmesi suretiyle floresan boya görünüp görünmediğinin belirlenmesidir. Günümüzde üretilen birçok antifriz sızıntıların tespit edilmesi amacıyla bir çeşit floresan boya olan sodyum floresein içermektedir (Thrall ve Hamar, 2012).

EG zehirlenmelerinde bir diğer önemli değişiklik de kan ve idrarda meydana gelmektedir. Laboratuvar bulguları arasında serum kalsiyum ve fosfor düzeyinin 3. ile 4. saate kadar yükseldiği ve daha sonra normal düzeylere indiği bilinmektedir. Diğer kan parametrelerinde ise serum üre, fosfor, total protein, klor, kreatinin, sodyum değerlerinin ve lökosit sayısının arttığı, hemoglobin değerlerinin düştüğü, yüksek anyonik gap, kan pH'ında düşüklük bilinmektedir (Alkan ve ark., 1995).

İdrarda da birtakım değişiklikler mevcuttur. Bu değişiklikler arasında izostenüri, kristalüri, proteinüri, hematüri sayılabilir. Ayrıca idrar asidik yapıdadır (Güneş, 1999). Ultrason muayenesinde böbrekler ve üriner kanalda metabolitlerin neden olduğu değişiklikler mevcuttur. Renal korteks ve medullada artmış bir ekojenisite ve santral medullada azalmış ekojenite bulunur. Böbreklerde Ca oksalat kristallerinin toplanması meydana gelir ve medullar tekerlek görüntüsü gelişir. Köpeklerde 3-6 saat içinde Ca-oksalat monohidrat tespit edilebilir (Bischoff, 2009; Cope ve Poppenga, 2011; Bilal, 2013).



Resim 2.1. Etilen Glikol ile Zehirlenen Köpeğin Sağ Böbreğinin Tekerek Görüntüsü (Rusenov ve ark., 2014)



Resim 2.2: Renal Tübüllerde Akut Tübüler Nekroz ve Tübüler İçerisinde Görülen Çift Kırılımlı Ca-oksalat Kristalleri (Renal Biyopsi) (Denning ve ark., 1988)

Postmortem bulgular EG toksikozunun kesin tanısı için sıklıkla kullanılmaktadır. Postmortem tipik bulgular mide kanaması, pulmoner ödem ve soluk sert böbrekler olarak sayılabilir (Bischoff, 2009). Nekropside ise böbreklerin genel incelenmesinde genişledikleri ve bulutlu grimsi bir renkte görüldüğü bildirilmiştir (Rusenov ve ark., 2014). Yapılan böbrek kesitlerinde medullar bölgeyi kaplayan vasküler staz nedeniyle soluk bir korteks görünümü mevcuttur. Eğer şok, şiddetli ve uzun sürerse kortikal nekroz belirgindir. Mikroskopik olarak, tübül lümenlerinin demet şeklinde kalsiyum oksalat kristalleri ile sıkışması sonucu tübüler nefroz veya nekrozun özellikleri gözlemlenir. Distal nefrona daha az sayıda kalsiyum oksalat kristali bulunur. Ayrıca oksalat kristalleri intrameningeal ve intracerebral kan damarları içinde görülebilir ancak beyin beyaz materyali içinde daha az lokalize olmuştur (Hennigarve ark., 1977).



Resim 2.3: Etilen Glikol ile Zehirlenen Köpekte Böbreklerinin Makro Anatomik Görünüm (Rusenov ve ark., 2014)

2.1.5. Tedavi

EG toksikasyonlarında tedavi protokolü uygulamada alınan dozaj ve alınma zamanı çok önem arz etmektedir. Tedavide amaç alınan EG miktarının metabolitlerine dönüşmesini engellemek ve eliminasyonunu hızlandırmaktır. Erken müdahale edilme şansı olduğunda gastrik lavaj ve emezis yapılarak alınan EG dışarı çıkarılması sağlanır. EG toksikasyonuna maruz kalmış hastalarda tedavide genellikle etanol ve fomepizol (4-metilpirazol) kullanılmaktadır. Ayrıca oluşan asidozun düzeltilmesi ve hipokalsemiyi düzenlemek için İ.V. bikarbonat ve kalsiyum preparatları uygulanmaktadır (Thrall ve Hamar, 2012; Aytuğ, 2012; Dökmeci, 2001; Lee, 2017).

EG toksikasyonunda uzun yıllar boyunca kullanılan etanol, EG'ün vücutta metabolize olması nedeniyle tercih edilmektedir. EG gibi alkol dehidrojenaz (ADH) ile metabolize olması dolayısıyla rekabet eden etanol sayesinde maruz kalınan EG idrar yoluyla değişime uğramadan atılması sağlanır (Thrall ve Hamar, 2012). ADH'nin etanole olan affinitesi etilen glikolden 100 kat daha fazladır ve bu sayede ADH reseptörleri etanole bağlanmak suretiyle inhibe edilmektedir (Aşırdizer ve ark., 2010). Toksikasyonun 4-8 saat sonrasına kadar verilmesiyle etkili sonuç vermektedir (Aytuğ, 2012). Etanol tedavisinde 50 ila 100 mg/dl kan konsantrasyonlarını korumak amaçlanır (Bischoff, 2009). Bu nedenle başlangıç dozu olarak %7'lik etil alkolden 600 mg/kg iv uygulanır ve 100-200 mg/kg düşürülerek devam edilebilir (Aytuğ, 2012; Bilal, 2013). Ancak etanol

ile tedavi edilen hastalarda MSS depresyonu, hipoglisemi, karaciğerde yağlı infiltrasyon ve solunum depresyonuna neden olmaktadır (Bischoff, 2009; Aşırdizer ve ark., 2010). Etanolün olumsuz etkilerinin olması dolayısıyla daha sonraki çalışmalarda fomepizol (4-metilpirazol)'ün etanole göre daha iyi ADH inhibitörü olduğu ve daha hızlı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca etanolde görülen sarhoşluk ve hipoglisemiye neden olmaması, yarılanma ömrünün fazla olması ve ciddi yan etkilerinin olmaması nedeniyle günümüzde tercih edilen tedavi yöntemi olarak kullanılmaya başlanmıştır (Aşırdizer ve ark., 2010). 4-metilpirazol köpeklerde, %5 sulandırılmış halde 20 mg/kg iv. başlangıç dozu verilir. İlk dozdan 12 ve 24 saat sonra 15 mg/kg doz verilir. Son olarak ise ilk dozdan 36 saat sonra 5 mg/kg verilir. Hastanın bu uygulamalardan sonra iyileşmediği durumlarda her 12 saatte 3 mg/kg ek doz önerilir (Thrall ve Hamar, 2012). Bazı kaynaklara göre bu uygulama kedilere göre etkisiz olduğu bildirilmiştir (Bilal, 2013). Fomepizol tedavisi köpekler için EG alımının 8 ila 12 saat içinde veya kediler için 3 saat içinde başlanırsa prognoz iyidir (Bischoff, 2009).

2.1.6. Prognoz

EG eğer zamanında müdahale edilmezse çok yüksek derecede ölümcül sonuçlar doğurabilecek potansiyele sahiptir, ancak toksikozun erken tanınması ve zamanında tedavi ile hayvanlar sağlıklarına kavuşabilmektedir. Etilen glikol toksikozunda yutulan miktarlar, maruz kalma şekli, emilim oranı ve tedaviden önce geçen zaman aralığı prognozu etkileyen değişkenlerdir. Prognoz, EG'ün yutulmasından sonraki 5 saat içinde fomepizol ile tedavi edildiği olgularda köpeklerde mükemmel olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte yutulmasının ardından 8 saat içerisinde uygulanan tedavilerde de olguların çoğunun iyileştiği bilinmektedir (Thrall ve hamar, 2012; Aytuğ, 2012). Ancak azotemik ve oligürik olgularda ise EG miktarının hemen hepsi metabolize edilmiş olduğundan prognoz kötüdür. Connally ve ark. (1996) EG zehirlenmesi olan köpeklerin üzerinde yapılan çalışmalarda başlangıç aşamasında azotemik olan tüm köpeklerin öldüğünü bildirmiş ve yine aynı aşamadaki azotemik olmayan köpeklerin tedavisi sonrası yaklaşık % 90' ının hayatta kaldığını bildirmiştir. Dial ve ark. (1994b) ise kediler için prognoz, yutulmasının ardından 3 saat içinde tedavi edilirse oldukça iyi olduğunu belirtmiştir.

İnsanlarda ise ağır asidozun ilk klinik belirtilerinden sonra hayatta kalanlar için prognoz çok iyi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca insanlarda nadir olarak ölümcül böbrek yetmezliği görülür. Böbrek yetmezliği bulunan çoğu hastalar, insanlardaki hemodiyaliz tedavisinin etkin olmasından dolayı EG zehirlenmesinden 2 ay sonra böbrek fonksiyonunu yeniden kazanabilmektedir (Demirel ve ark., 2012).

2.2. Veteriner Hekimlikte Kardiyak Hasarın Tanısında Kullanılan Biyomarkırlar

Günümüzde veteriner hekimlikte kardiyak hasarların teşhisinde ve değerlendirmelerinde fiziksel muayeneler, radyografi, EKG, angiokardiografi bulguları ile bazı serum biyokimyasal parametrelerinin analizleri önemli bir yer tutmaktadır. Ancak kalp hastalıklarında bazı durumlarda yukarıdaki teşhis metodlarının çoğu yetersiz kalmaktadır. Miyokardiyal enfarktüsün değerlendirilmesinde genellikle EKG bulgularına ihtiyaç duyulmaktadır. EKG vasıtasıyla bile miyokardiyal enfarktüslü hastaların % 45inin teşhis edilebildiği bildirilmektedir (Sönmez, 2008).

Klinik teşhis methodları ve EKG ile teşhis dışında kardiyak hasarların tespitinde bazı biyokimyasal belirteçlerden de yararlanılmaktadır. Bu belirteçlerden ilk olarak 1957 yılında Serum Glutamik Oksaloasetik Transaminaz (SGOT), 1957 yılında Laktat Dehidrogenaz (LDH) daha sonra ise 1966 yılında Keratin Kinaz (CK) kullanılmaya başlanmıştır. Bu belirteçler dışında ise Apartat Aminotransferaz (AST), Alanin Aminotransferaz (ALT), Atrial Natriüretik Peptid (ANP), Brain Natriüretik Peptid (BNP), kalbe spesifik keratin kinaz (CK-MB) ve kardiyak troponinler miyokardiyal hasarların tanısında önemli görülmektedir (Ağırçöl, 2009; Uluşan ve ark., 2016; Er, 2013; Köse, 2013).

Kardiyak hasarlarda doğru tanı koyulması için biyobelirteçlerin; kalp kası hasarlarının tespitinde duyarlılığının yüksek olması, miyokartta konsantrasyonlarının yüksek olması ve hasar sonrasında salınımının hızlı olması, dokuya spesifik ve hasarın boyutuna göre artan oranda bulunması istenilmektedir. Bu maksatla yapılan çalışmalarda troponinlerin CK-MB ve LDH enzimlerine göre daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca CK, AST ve LDH biyomarkırlarının kalp hastalıklarının yanı sıra böbrek, iskelet kası ve karacğer hastalıklarında da kandaki düzeyleri artmakta olduğu bilinmektedir (Er, 2013; Ağırçöl, 2009).

CK vücutta iskelet, miyokard ve beyinde bulunmaktadır ve bu biyomarkırın serum seviyelerindeki artışı iskelet ya da kalp kası hasarı olduğunu işaret etmektedir. CK'ın enzim orjinine göre üç izoenzimi bulunur. Bunlar; CK-MB (kalp kası), CK-MM (İskelet kası) ve CK-BB (beyin)'dir. Bu parametreler içerisinde CK-MB seviyelerinin artışı miyokard infarktüsünün tanısı açısından önemlidir (Ağırgöl, 2009; Sönmez, 2008). Miyokard hasarı sonrasında serum CK-MB 4 saat içerisinde yükselmeye başlar ve 12. saatte kanda pik seviyelere ulaşır. Tekrar eski seviyelerine ise 24-72 saat içerisinde geri döner (Er, 2013). Bu nedenden dolayı CK-MB kalp kasında hasar şekillendikten kısa bir süre sonra normale döndüğü için kalp yetmezlikleri için çok spesifite göstermez (İçen ve ark., 2009).

Kardiyak hasarlar açısından önemi bulunan diğer parametre olan AST, kalp kasında yüksek oranda bulunması sebebiyle 1954 yılında akut miyokard infarktüs vakalarında kullanılmaya başlanmıştır. Fakat kalp kası dışında iskelet kası ve karaciğerde oluşabilecek hastalıklarda da artması sebebiyle günümüzde pek tercih edilmemektedir. Aynı şekilde ALT % 73 hepatositler, % 12 kalp, % 8 böbrek, % 4 pankreas, % 2 dalak ve % 1 oranında akciğerde bulunmaktadır. Kedi ve köpeklerde bu enzim karaciğere spesifiktir ve parametrenin yükselmesi karaciğer hasarını gösterir. Ancak kalpte karaciğerdekinin ¼'ü kadar bulunmasından dolayı miyokard hasarlarının tanısında çok tercih edilmemektedir (Sönmez, 2008; Bayraktar, 2014).

Kardiyak hasarların teşhisinde kullanılan bir diğer belirteç ise akut faz proteini olan C-reaktif protein (CRP)'dir. CRP düzeyleri Akut Miyokart İnfarktüsü, enfeksiyon, stres, travma, inflamasyon, cerrahi sonrası ya da neoplastik proliferasyonda artış gösterebilmektedir. Sağlıklı birey serumlarında <1mg/dl oranında bulunur. CRP düzeyi serumda inflamasyonun başlamasından 4-6 saat sonra yükselmeye başlar ve 24-48 saat sonra serumda pik seviyelere ulaşır. Normal olarak bulunması gereken miktarların 100-2000 katına kadar yükselebilmektedir. İnflamasyon sonlandıktan 3 ila 7 gün içerisinde ise normal düzeylere inmektedir (Deveci, 2015).

Kalpte, karaciğerde ve kaslarda yoğun olarak bulunan ve tanısal olarak yardımcı olan LDH enziminin 5 izoenzimi bulunmaktadır. Miyokard infarktüsü sırasında serum LDH düzeyi 10. saate kadar yükselir ve 72 saatte pik düzeye ulaşır ve ardından yavaş bir şekilde normale döner. LDH' ın kalp hastalıklarında değerlendirmesi ise ancak LDH/α-HBDH oranına bakılarak yapılabilir. Kan alma sırasındaki strese bağlı olarak hemoliz

şekillenirse hatalı sonuçlar elde edilebileceği için tek başına değerlendirmede çok fazla önem arz etmez (Taşkın, 2017; Kahraman, 2018; İçen, 2009).

Myoglobin ise iskelet ve kalp kasında bulunan düşük moleküler ağırlıklı sitozolik bir proteindir. Düşük moleküler ağırlığından dolayı kalp kası hasarından sonra çok kısa bir sürede dolaşımda konsantrasyonu yükselmektedir. Fakat kalp kasına spesifik bir protein olmaması nedeniyle bu proteinlerin kardiyak hasarın tanısı bakımından dezavantaj olarak kabul edilir (Tümer, 2018).

ANP ve BNP ise dolaşım sistemindeki kardiyak hormonlardan olup kardiyak natriüretik peptid olarak isimlendirilirler. ANP atriyumlarda BNP ise ventriküllerde depolanmaktadır. Bu nedenle ventriküler hastalıkların tanısında BNP spesifik gösterge olarak kullanılmaktadır (İçen, 2009).

Beşeri Hekimlikte kardiyak hasarların tanısında birçok biyokimyasal belirteçler kullanılmasına rağmen veteriner hekimlikte bu amaçla genellikle kardiyak troponinler kullanılmaktadır. İnsanlarda olduğu gibi evcil hayvanlarda da kan ve çizgili kaslarda bulunduğu bilinmektedir. Troponinler, kalp ve iskelet kaslarının kontraksiyonları ve kalsiyum aracılı aktin ve miyozin arasındaki etkileşimini düzenler (Deveci, 2009; Topçu, 2009; Er, 2013). Ayrıca troponinler, kalbe özgün olmaları ve diğer belirteçlerin tespit edemeyeceği boyuttaki nekrozları bile tayin edebilmesinden dolayı tercih edilen bir parametredir (Ağırgöl, 2009). Troponinler yapısal bakımdan vücutta çizgili kaslar üzerinde yer alan globüler yapıdaki proteinler olup üç alt ünitesi mevcuttur. Bunlar Tn-I, Tn-T ve Tn-C olarak isimlendirilirler. Tn-C hücre içerisindeki artan kalsiyumu bağlayarak miyozinlerin aktinlere bağlanmasını sağlamakta, Tn-I aktin miyozin etkileşimini inhibe edip aktin-Tn-C arasındaki bağlantıyı engellemekte, Tn-T ise troponin kompleksinin tropomiyozine bağlanmasını sağlamaktadır. Troponin C'nin kardiyak önemi düşük olmakla beraber Troponin-I ve Troponin-T kalp kası hücrelerinin hasarı üzerinde önemli biyobelirteçlerdir (Topçu, 2009; Akın, 2010; Başbuğan, 2008; Kahraman, 2018; Tümer, 2018). Tn-I ve Tn-T kalp kasında ve iskelet kasında bulunurlar. Ancak kalp kasında bulunan troponinleri kodlayan genlerde farklılıklar bulunmaktadır. Bu yüzden de serum konsantrasyonlarının ölçülebilmesi teşhis açısından büyük önem arz etmektedir (Doyuk, 2013; Ulsan ve ark., 2016).

Miyokard hasarını belirlemek amacıyla hem cTn-T hem de cTn-I analiz sonuçlarının faydalı olabileceği rapor edilmiştir. Ayrıca uzun süre boyunca kanda yüksek seviyelerde

bulunması da teşhisi kolaylaştırması bakımından önemli sayılmaktadır. Akut miyokardiyal sendrom ve nekrozis sonucunda cTn-T ve cTn-I miyositlerden dolaşıma salınmakta ve 2-4 saat içerisinde yükselmiş seviyelerdeki troponin dolaşımında tespit edilebilmektedir. Ayrıca kanda 12-24 saat içerisinde pik seviyelere ulaşmakta ve sonrasında yavaş şekilde düşüşler meydana gelmektedir. İlk seviyelerine ise 5-20 gün arasında geri döndüğü bildirilmiştir (Nakipoğlu, 2016; Sugen ve Güneş, 2008; Çelebi ve ark., 2008).

Tablo 2.2: Serum Kardiyak Belirteçleri (Bayraktar, 2014; Taşkın, 2017)

Belirteç	Molekül Ağırlığı	Üst Referans Sınırını Aştığı Zaman (saat)	Tepe Konsantrasyona Ulaşması İçin Geçen Zaman (saat)	Referans Aralık Düzeyine İnmesi İçin Geçen Zaman (gün)
CK	86000	3-8	10-24	3-4
CK-MB	86000	3-8	10-24	2-3
LD,LD-1	135000	8-12	72-244	8-14
Miyogloblin	18000	1-3	6-9	1
cTn-I	23000	3-8	24-48	3-5
cTn-T	42000	3-8	24-48(ilk tepe) 72-100(ikinci tepe)	5-10

Günümüzde çok miktarda cTn-I ölçüm kiti bulunmaktadır. Ancak ölçümlerde bu kitler % 3.1 oranında yanlış pozitif sonuçlar verdiği bilinmektedir. Bu yüzden tekrar tekrar ölçüm yapılması önerilmektedir (Bayraktar, 2014). Yapılan çalışmalarda sağlıklı kedilerde serum troponin cTn-I düzeyi 0 ng/ml tespit edilirken, solunum yetmezliği gösteren kedilerde 0.19 ile 1.43 ng/ml, kalp yetmezliği olan kedilerde ise 0.2 ile 30.24 ng/ml düzeyinde tespit edilmiştir (İçen, 2009). Aşağıdaki tabloda farklı çalışmalarda sağlıklı ve hasta köpeklerde ölçülen cTnI seviyeleri gösterilmektedir:

Tablo 2.3: Köpeklerde Farklı Çalışmalarda Saptanan cTn-I Sonuçları
(Nakipoğlu, 2016)

Yıl	Olgular	cTn-I Düzeyleri	
		Min	Max
2001	Sağlıklı	<0.03	0.07
2004	Sağlıklı	0.03	0.11
	Kardiyomiyopati	0.03	1.88
	Mitral kapak hastalıklı	0.01	9.53
	Subvalvular aortik stenosisli	0.01	0.94
2005	Sağlıklı	0.05	0.24
	Mitral kapak hastalıklı	0.1	0.75
	Dilate kardiyomiyopati	0.05	1
	Perikardiyal efüzyonlu	0.05	0.3
	Toplam kongenital kalp hastalıklı	0.05	0.51
2007	Mitral kapak hastalığı nedeniyle konjestif kalp yetmezliği bulunan	<0.1	0.31
2010	Genç hayati tehlikesi ve kalp hastalığı olmayan	≤ 0.15	
	Kalp hastalıklı ve prognoz kötü	0.151	1
	Kalp hastalıklı ve prognoz çok kötü	≥ 1.01	
2012	Sağlıklı	0.001	0.132
	Leishmaniasisli	0.001	3.47

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Bu proje, deneysel bir çalışma olup, deney hayvanlarında farklı dozlarda EG zehirlenmesi oluşturularak kontrol grubuna karşı oluşması muhtemel kardiyak hasarlar ve birtakım biyobelirteç düzeylerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amacıyla planlandı. Çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 8340 nolu proje ile desteklenmiştir. Çalışmalara başlanabilmesi için gerekli Etik Kurul Onayı Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 13.04.2016 tarih 16/075 karar no ile alınmıştır.

3.1. Kullanılan Denek Cinsi Sayısı ve Dağılımı

Bu proje, ratlarda deneysel toksikasyon oluşturma ve numunelerin toplanması amacıyla Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinde 16.01.2019 ve 26.01.2019 tarihlerinde yürütülmüştür. Toksikasyon sürecinin daha sağlıklı yürütülebilmesi, örneklerin en uygun ve hızlı şekilde toplanabilmesi için her grup ayrı zaman diliminde çalışılmış ve farklı cinsiyetteki hayvanların aynı çalışma gruplarında homojen dağılması sağlanmıştır.

Projede herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan 12 saat aydınlık 12 saat karanlık %40-%60 nisbi nem oranına ve 20-24 0C oda sıcaklığında barındırılan ortalama 3 aylık Sprague Dawley cinsi ratlar kullanılmıştır. Toplam 30 adet olan ratlar rastgele örnekleme olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Gruplardan birine kontrol olarak gastrik lavaj yöntemi ile serum fizyolojik, diğer iki gruba ise farklı dozlarda gastrik lavaj yöntemi ile medikal EG (Zag Kimya, Türkiye) verilerek deneysel olarak toksikasyon oluşması hedeflenmiştir (Resim 4.1). Bu uygulamaların hayvanlarda meydana getirdiği değişiklikler ve klinik zehirlenme tablosu kontrol grubu hayvanları verileri ile karşılaştırıldı.

Çalışmada kullanılan ratların ortalama ağırlıkları Grup I (yüksek doz grubu) 328.5 ± 39.4 gr Grup II (düşük doz grubu) 492.72 ± 28.9 gr; Grup III (kontrol grubu) 393.00 ± 28.05 gr

idi. Ortalama yaşları; Grup I'de 4.00 ± 0.33 Grup II'de 5.45 ± 0.28 Grup III'de 4.9 ± 0.34 ay idi.

Çalışma grupları aşağıdaki gibi düzenlendi.

Grup I (n=10) (Yüksek Doz EG grubu): Toksikasyon oluşturmak amacıyla gastrik gavaj yöntemi ile 6 ml/kg medikal EG verilen miktarlar 3ml olacak şekilde SF ile sulandırılarak verilen ratlar.

Grup II (n=10) (Düşük Doz EG grubu): Toksikasyon oluşturmak amacıyla gastrik gavaj yöntemi ile 3 ml/kg medikal EG verilen miktarlar 3ml olacak şekilde SF ile sulandırılarak verilen ratlar.

Grup III (n=10) (Kontrol grubu): Diğer gruplarda verilen miktarlara eşdeğer olarak gastrik gavaj yöntemi ile SF verilen ratlar

3.2.Klinik Muayene

Her bir grupta bulunan hayvanların çalışma öncesi sağlık taramaları yapıldı. EG ve SF verilmesi sonrasında ilk 5 saat boyunca gözetim altında tutulmuştur. 5. Saatten sonra her 2 saatte ratların genel muayeneleri yapılarak görülen değişiklikler kaydedilmiştir.

3.3. Kan ve Miyokard Örneklerin Toplanması

SF ve Medikal EG verilmenin hemen öncesinde ve verilmesinden sonra 72 ve 96. saatlerde bütün çalışma gruplarındaki ratların kuyruk venalarından yaklaşık 1 ml ependorflara kan örnekleri alındı. Son örnek toplama zamanı olan 96. saatte ise 5 ml EDTA'sız ve EDTA'lı tüplere hematolojik ve biyokimyasal parametreler için kan örnekleri alınmıştır. 96.saatte her gruptan rastgele seçilen 5'er adet ratlar sırasıyla genel anestezi altına alınarak ötenazi edildi. Göğüs kafesinin açılmasını takiben kalpler damarlardan ayrılmak suretiyle alınarak önceden hazırlanmış olan %10'luk formol içeren kaplarda muhafaza edilmiştir.

3.4. Hematolojik Analizler

Her bir gruptaki ratlardan 96. saat sonunda ve ölüm meydana gelmemiş olan diğer gruplardaki hayvanlardan genel anestezi altında göğüs hizasından yapılan kardiyak punksiyonla alınan kan örnekleri Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında Exigo (İsveç) marka cihazda hematolojik analizleri yapılmıştır.

3.5. Biyokimya Analizleri

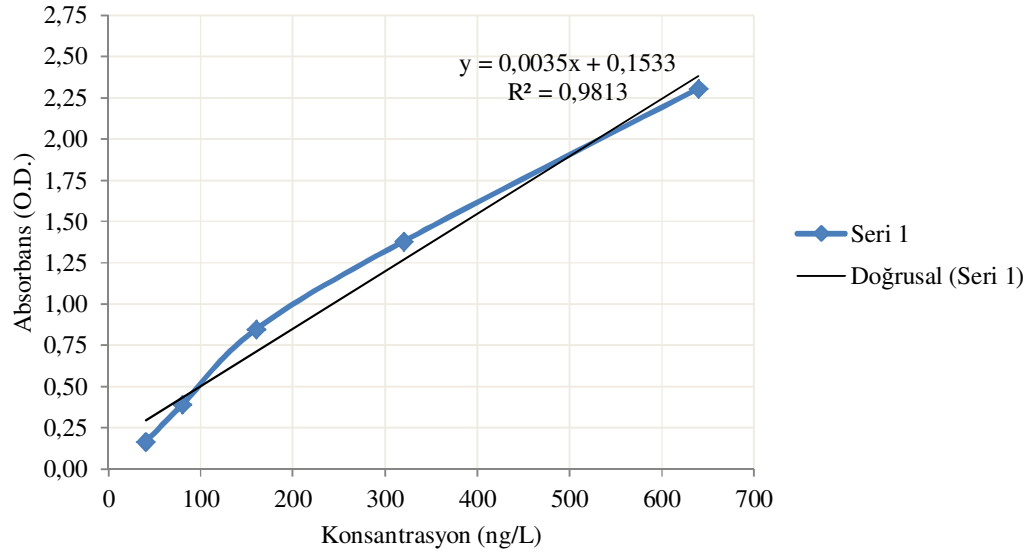
Daha önceden planlanan zamanlarda kan örnekleri alınıp santrifüj ile elde edilerek buzdolabında saklanan serum örnekleri Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında Rodofix 32A (İngiltere) marka cihazda biyokimyasal analizleri yapılmıştır. Kardiyak troponin-T analizleri ERÜ Merkez Biyokimya laboratuvarında Cobas 8000 (Türkiye) marka cihazda yapılmıştır.

3.6. İdrar Analizleri

Her gruptan rastgele seçilen 5 adet rattan masaj yöntemi ile beraber ependorflara 1-2 ml idrar numunelerinin toplanması sağlanmıştır. Toplanan idrar numuneler Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında 2000 rpm'de 5 dk. santrifüje edilmiş, üstte kalan idrar atıldıktan dipteki tortuda mikroskop altında sediment muayenesine tabi tutulmuş Ca-oksalat kristalleri aranmıştır.

3.7. cTn-I ELISA Analizi

Kan Serumunda cTn-I aranması için Sunred marka (Çin) Rat (cTn-I) ELISA Kiti kullanılmıştır. Daha önce -20 °C de saklanan kan serumları ve ELISA Kit sarf malzemeleri oda ısısına getirildi. İlk önce kit içerisinde bulunan reaktiften 120 µL aynı mikrarda standart diluent ile karıştırıldı. Daha sonra bu karışımdan 120 µL alınarak aynı miktarda diluent ile bir dizi seyreltme işlemiyle en düşüğü 40 µL oranında toplamda 5 adet standart elde edildi. Mikroplatelerde ilk kuyucuk blank, sonraki 5 kuyucuk standard kuyucuğu olarak belirlendi. Standartlar 50 µL olacak şekilde kuyucuklara eklendi ve aynı miktarda konjugat eklendi. Örnek kuyucuklara 40µL serum, 10 µL biotinlenmiş antibody ve 50 µL konjugat eklendi. Mikroplatelerin üzeri yapıştırılarak 37 °C'da 60 dakika etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kuyucuklar dilüe yıkama solüsyonu doldurularak yıkama işlemi yapıldı ve bu işlem 4 defa tekrarlanarak kurulandı. Daha sonra her bir kuyucuğa sırasıyla kromojen A ve B solüsyonları eklenerek 10 dakika aynı ısıda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Daha sonra 15 dakika içerisinde Biotek ELISA Reader (elx800 (USA)) ile okundu. Bilgisayar ortamında elde edilen verilerden standart grafiği elde edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: ELİSA Analizleri İçin Elde Edilmiş Standart Eğri

3.8. İstatistik Analizler

Elde edilen verilerin istatistiki analizleri SPSS 13.0 (2000) paket programı ile bilgisayar ortamında yapılmıştır. Verilerin analizleri için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Deneme süresince alınan değerleri karşılaştırmak için Dunnnett testi, farklı grupların eş zamanlı verilerini karşılaştırmak için Tukey testi uygulandı. Gruplar arası farklılığın ve zamana göre değişimlerin önem derecesi $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Muayene Bulguları

Çalışma kapsamına alınan her bir gruptaki ratların sağlık kontrolleri EG verilmeden önce ve toksikasyon aşamalarını gözlemlemek için stres oluşturmayacak şekilde belirli sıklıkla kontrolleri yapılarak bulgular kayıt altına alınmıştır.

Grup I ratlarda EG verilmesinden sonraki 45 dakika içerisinde genel durumlarında bozulmalar görülmeye başlanmış ve 3 saat sonunda yapılan muayenede genel olarak sarhoşluk hali ile birlikte uyuklama, sallantılı yürüyüş, arka bacakları çekememe, poliüri, anoreksi, dehidrasyon ve genel durgunluk hali gözlemlenmiştir. 5 ve 8. saatlerde yapılan muayenede ise ratların genelinde koma hali gözlemlenmiştir (Resim 4.2). Grup I hayvanlarındaki 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı ratlar 22. saate kadar ölmüştür. 2 ve 3. günden sonra yapılan gözlemlerde ise sağ kalan ratlarda genel durum düzelmeye başlamıştır (Resim 4.3 ve 4.4). Buna göre mortalite oranı bu grupta % 60 olarak belirlenmiştir.

Grup II'de yer alan ratlarda da EG verilmesinden 45 dakika içerisinde genel durumlarında bozulmalar görülmeye başlanmış ancak Grup I hayvanlarına göre klinik belirtiler daha hafif seyretmiştir. Grup I'de görülen benzer semptomlar, Grup II'deki hayvanlarda da gözlenmiş fakat 2. günden sonra yapılan muayenelerde anoreksi ve dehidrasyon dışındaki semptomlarda 1, 3 ve 7 numaralı rat dışında diğer grup hayvanlarında azalma gözlemlenmiştir. Genel durumunda düzelme görülmeyen 1, 3 ve 7 numaralı ratlar 23 ile 26. saatler içerisinde ölmüştür. Bu sonuca göre Grup II de mortalite oranı % 30 olarak belirlenmiştir.

Ölen ratlarda yapılan nekropsilerde şişkin böbrekler ve akciğerlerde hafif ödem tablosu görülmüştür. **Gruplarda bulunan ratlarda semptomların görülme sayılarını içeren tablo aşağıda gösterilmiştir:**

Tablo 4.1: Etilen glikol verilen ratlarda görülen semptomlar.

Semptomlar	Grup I (sayı)	Grup II (sayı)
Sarhoşluk durumu	10	10
Depresyon	9	7
Koma	7	4
Sallantılı yürüyüş	10	7
Poliüri	6	4
Dehidrasyon	8	5
Anoreksi	9	6
Pelvik inkoordinasyon	8	5
Ölüm sayısı	6	3

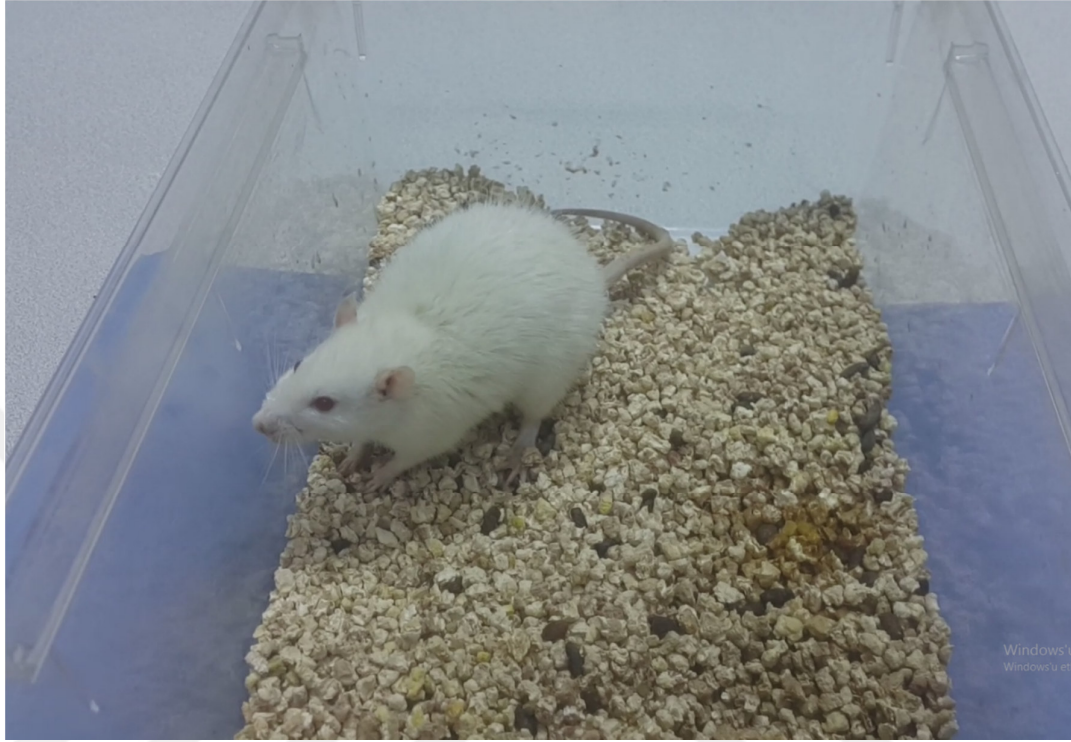
**Resim 4.1:** Gastrik Gavaj Uygulaması



Resim 4.2: Etilen Glikol Uygulamasından Sonraki 5. Saat Klinik Görünümü (Grup II).



Resim 4.3: Etilen Glikol Uygulamasından Sonraki 2. Gün Klinik Görünümü (Grup II).



Resim 4.4: Etilen Glikol Uygulamasından Sonraki 3. Gün Klinik Görünümü (Grup II).

4.2. Hematolojik Bulgular

Çalışma gruplarındaki ratlardan 96. saat sonunda genel anestezi altında kardiyak punksiyon yöntemiyle elde edilen kan örneklerinde ortalama WBC, LYM, MONO, GRAN, LYM%, MON%, GRA%, RBC, HGB analizlerine ait bulgular aşağıdaki tabloda (Tablo 4.1) verilmiştir.

Tablo 4.2: Gruplardaki Ortalama Kan Parametreleri Düzeyleri.

Parametreler	Gruplar	96.Sa X±Sh	Parametreler	Gruplar	96.Sa X±Sh
WBC (10 ⁹ /l)	Grup I	5.23±0.93	HCT (%)	Grup I	29.85±12.51
	Grup II	5.5±1.82		Grup II	47.34±4.87
	Grup III	5.16±0.99		Grup III	34.57±1.99
LYM (10 ⁹ /l)	Grup I	4.35±0.40	MCV (fl)	Grup I	53.15±1.01
	Grup II	5.58±1.32		Grup II	50.04±0.49
	Grup III	3.86±0.76		Grup III	50.64±0.55
MONO (10 ⁹ /l)	Grup I	0.15±0.05	MCH (pg)	Grup I	19.52±0.47
	Grup II	0.36±0.30		Grup II	17.56±0.19

	Grup III	0.34±0.05		Grup III	18.1±0.15
GRAN (10 ⁹ /l)	Grup I	2.50±0.98	MCHC (g/dl)	Grup I	36.85±1.39
	Grup II	3.96±1.17		Grup II	35.08±0.33
	Grup III	2.95±0.19		Grup III	35.76±0.29
LYM% (%)	Grup I	44.5±10.22	RDW _a (fl)	Grup I	36.3±1.43
	Grup II	44.12±8.50		Grup II	32.84±0.44
	Grup III	56.38±2.26		Grup III	33.05±0.58
MON% (%)	Grup I	4.35±0.11	RDW% (%)	Grup I	15.25±0.31
	Grup II	6.60±1.65		Grup II	14.26±0.37
	Grup III	5.20±0.64		Grup III	14.01±0.33
GRA% (%)	Grup I	53.15±10.15	PLT (10 ⁹ /l)	Grup I	782.33±173.19
	Grup II	49.28±9.81		Grup II	701.2±159.17
	Grup III	58.41±1.69		Grup III	707±140.07
RBC (10 ² /l)	Grup I	7.36±2.39	MPV (fl)	Grup I	4.77±0.15
	Grup II	9.45±0.96		Grup II	4.46±0.12
	Grup III	6.82±0.38		Grup III	4.66±0.19
HGB (g/dl)	Grup I	14±4.44			
	Grup II	16.6±1.66			
	Grup III	12.34±0.69			

Hematolojik analiz bulgularında kontrol grubu ve çalışma gruplarından elde edilen örneklerde istatistiksel açıdan herhangi anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

4.3. Biyokimyasal Bulgular

Proje kapsamındaki üç çalışma grubundaki ratlardan elde edilen serum örneklerinde ortalama glikoz, kan üre nitrojen (BUN), kreatinin, gama glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), Kalsiyum, alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), aspartat amino transferaz (AST), Sodyum (Na), Klor (Cl), Potasyum (K) analizlerine ait bulgular Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.3: Çalışma Gruplarında Ortalama Glukoz, BUN, Kreatinin, GGT, LDH, AST, ALP, Na,K,Cl, Total Protein ve Albumin Düzeyleri Değişimleri

Parametreler	Gruplar	Toksikasyon Saatleri		
		0.Sa X±Sh	72.Sa X±Sh	96.Sa X±Sh
ÜRE (mg/dL)	Grup I	25.6±0.62 Aa	90±0.57 Ab	93±21 Ab
	Grup II	45±1.55 Aa	278.75±7.75 Ab	385.33±132.80 Bb
	Grup III	49.9±0.18 Ba	45.6±0.98 Ab	49.55±1.36 Aa
LDH (U/L)	Grup I	1420.12±72.79 Aa	1810.4±28 Aa	1916.4±302.3 Ab
	Grup II	1404.4±111 Aa	3340.55±373.95 Ba	1278.08±215.87 Aa
	Grup III	1370.37±66.09 Aa	1404.93±54.80 Aa	1459±42 Aa
GGT (U/L)	Grup I	2.5±0.29 Aa	1.5±0.2 Ab	1±0.05 Ab
	Grup II	8.167±5.4 Aa	3±1.53 Ba	22±6.40 Ba
	Grup III	1.75±0.36 Aa	2±0.28 Aa	1.5±0.16 Aa
GLİKOZ (mg/dL)	Grup I	118.59±4.49 Aa	159.58±0.24 Ab	213.01±13.53Ac
	Grup II	138.67±8.7 Aa	337.08±14.07 Ab	223.05±42.37 Ab
	Grup III	124.89±20.31 Aa	115.66±5.33 Ba	138.52±29.29 Ba
KREATİNİN (mg/dL)	Grup I	0.76±0.02 Aa	1.75±0.28 Ab	1.64±0.21 Ab
	Grup II	1.60±0.62 Aa	2.24±0.04 Bb	3.65±1.21 Aa
	Grup III	1.18±0.12 Aa	0.71±0.03 Bb	0.84±0.11 Bb
KALSİYUM (mg/dL)	Grup I	11.64±0.35 Aa	10.58±1.65 Ab	8.92±1.52 Ab
	Grup II	10.65±0.46 Aa	9.63±0.73 Aa	7.65±1.08 Ab
	Grup III	11.56±0.44 Aa	11.37±0.43 Ba	10.32±0.06 Bb
ALT (U/L)	Grup I	68.85±2.24 Aa	88.3±3.64 Aa	59.36±19.26 Aa
	Grup II	107.84±15.65Ba	89.3±5.87 Aa	165.85±58.55 Aa
	Grup III	69.05±5.81 Aa	74.18±0.80 Aa	69.64±4.37 Aa
AST (U/L)	Grup I	119.45±12.33 Aa	180.4±9.66 Ab	113.2±7.9 Aa
	Grup II	159.98±21.75 Aa	460.1±92.9 Bb	319.71±81.40 Bb
	Grup III	121.84±4.48 Aa	141.5±4.71 Ab	153.71±12.49 Cb
ALP (U/L)	Grup I	210.33±27.44 Aa	118±11.32 Ab	158±41 Aa
	Grup II	227±19.61 Aa	267.25±23.75 Ba	345.83±55.41 Ba
	Grup III	215.33±33.12 Aa	291.22±5.74 Bb	219.6±17.69 Ca
Na (mEq/l)	Grup I	156.5±2.02 Aa	147.5±7.5 Aa	151±7 Aa
	Grup II	163±12.35 Ba	180±11 Ba	136±9.55 Ba
	Grup III	145±9.6 Ba	150±12.3 Ba	140±7.68 Ba
K (mEq/l)	Grup I	6.56±0.29 Aa	5.83±0.28 Aa	6±0.3 Aa
	Grup II	7.1±0.8 Ba	8.3±0.7 Bb	7.2±0.56 Ba
	Grup III	5.9±0.4 Ca	5.8±0.5 Ba	5±0.3 Ca
Cl (mEq/l)	Grup I	116.33±1.476 Aa	112.33±3.84 Aa	116.66±4.33 Aa
	Grup II	125±4.7 Ba	127±5.4 Ba	91±6 Ba
	Grup III	107±6.9 Ca	110±8.6 Ba	100±9.1 Cb

GI (n=10) (Yüksek doz grubu): 6000 mg/kg uygulanan grup. GII (n=10) (Düşük doz grubu): 3000 mg/kg uygulanan grup. GIII (n=10) (Kontrol grubu): Diğerleriyle aynı hacimde SF uygulanan grup *Büyük harfler(A,B,C) gruplar arası aynı saatlerdeki farkı,küçük harfler (a,b,c) aynı grup içerisindeki saatler arası farkı ifade etmektedir.

Bu projede farklı dozlarda EG verilen ratlarda bazı ortak ve yaygın biyokimyasal bulgular elde edilmiştir. Etilen Glikol verilen heriki grupta Hipokalsemi, hiperkalemi gözlenirken, BUN ve Kreatinin düzeylerinde kontrol grubuna göre ve EG verilmeden önceki değerlere göre istatistiksel açıdan önemli oranda ($p<0.05$) artışlar izlenmiştir. Grup I ve II’de ortalama Glukoz düzeyleri EG verilmesinden sonra önemli oranda artmıştır ($p<0.05$).

4.4. Kalp Biyomarkır Bulguları

Çalışma gruplarındaki ratlardan belirli sürelerde alınan serum örneklerinde ortalama CK-MB, cTn-T, cTn-I analizlerine ait bulgular Tablo 4.3’te verilmiştir. Bazı ortalama değerlerde istatistiksel açıdan önemli değişiklikler gözlenmiştir.

Tablo 4.4: Gruplardaki Ortalama Kardiyak Biyobelirteç Düzeyleri.

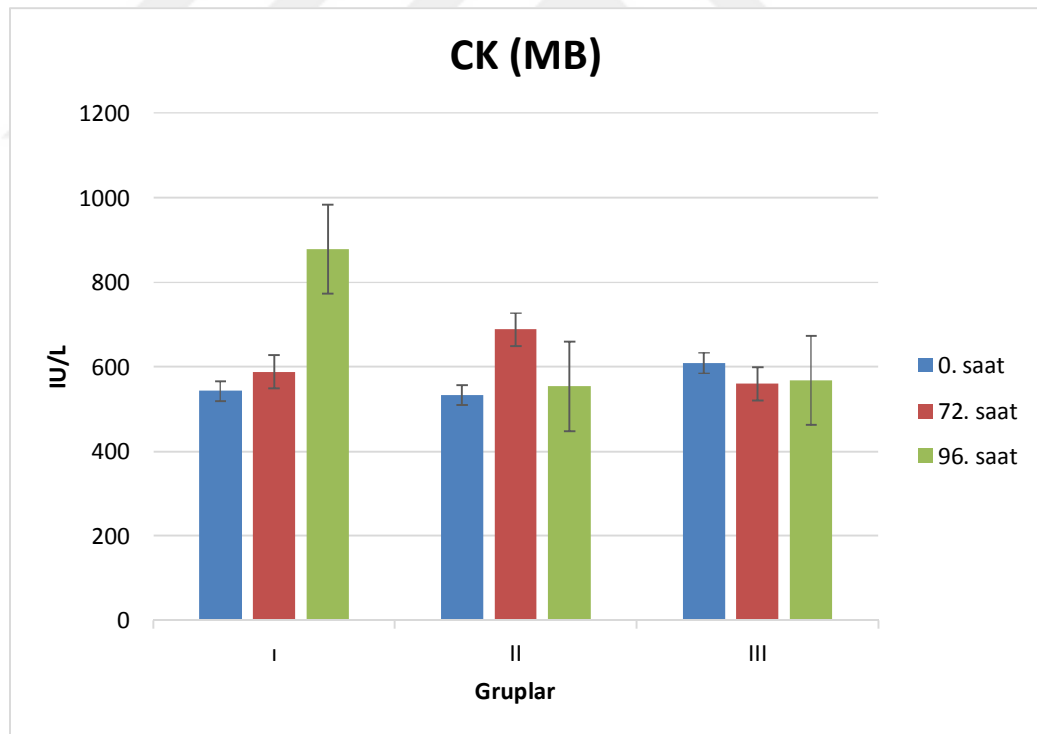
Parametreler	Gruplar	Toksikasyon Saatleri		
		0.Sa X±Sh.	72.Sa X±Sh.	96.Sa X±Sh.
CK-MB (IU/L)	Grup I	542.66±11.26 Aa	587.66±55.44 Aa	877.5±27.56 Ab
	Grup II	532.75±17.15 Aa	688.12±319.09 Ba	554.25±112.44 Ba
	Grup III	609±7.45 Aa	560±5.77 Ab	567.5±12.29 Bb
cTnT (ng/mL)	Grup I	0.013±0.002 Aa	0.041±0.025 Aa	0.578±0.006 Ab
	Grup II	0.040±0.003 Aa	0.155±0.028 Bb	0.866±0.225 Ac
	Grup III	0.031±0.003 Aa	0.019±0.001 Cb	0.068±0.004 Bc
cTnI (ng/mL)	Grup I	0.032±0.004 Aa	0.036±0.006 Aa	0.029±0.006 Aa
	Grup II	0.037±0.003 Aa	0.032±0.003 Aa	0.031±0.002 Aa
	Grup III	0.028±0.002 Ba	0.047±0.005 Bb	0.037±0.005 Ab

GI (n=10) (Yüksek doz grubu): 6000 mg/kg uygulanan grup. GII (n=10) (Düşük doz grubu): 3000 mg/kg uygulanan grup. GIII (n=10) (Kontrol grubu): Diğerleriyle aynı hacimde SF uygulanan grup *Büyük harfler(A,B,C) gruplar arası aynı saatlerdeki farkı,küçük harfler (a,b,c) aynı grup içerisindeki farklı saatler arası farkı ifade etmektedir.

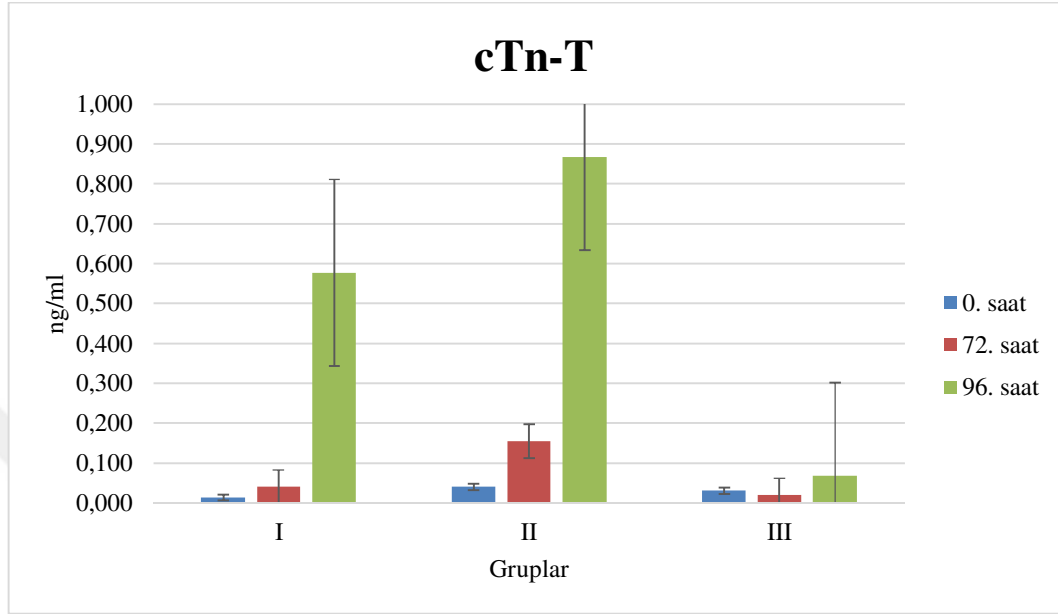
Elde edilen cTn-T ve CK-MB ortalamaların kontrol grubunda aşırı artış görülmezken EG verilen çalışma gruplarında 72 ve 96. Saatlerde önemli değişiklikler görüldü. Buna rağmen cTn-I seviyelerinin tün gruplarda EG verildikten sonraki saatlerde istatistiksel açıdan önemli oranda değişmediği ve bu değerlerin birbirinden farklı olmadığı belirlenmiştir.

Ortalama cTn-T düzeylerinin 72 ve 96. saatte kontrol grubuna göre çalışma gruplarından önemli düzeyde farklı olduğu gözlemlendi. Yine çalışma gruplarında 72 ve 96. saatlerde EG verilmeden önceki düzeylerde anlamlı oranda yüksek olduğu belirlendi.

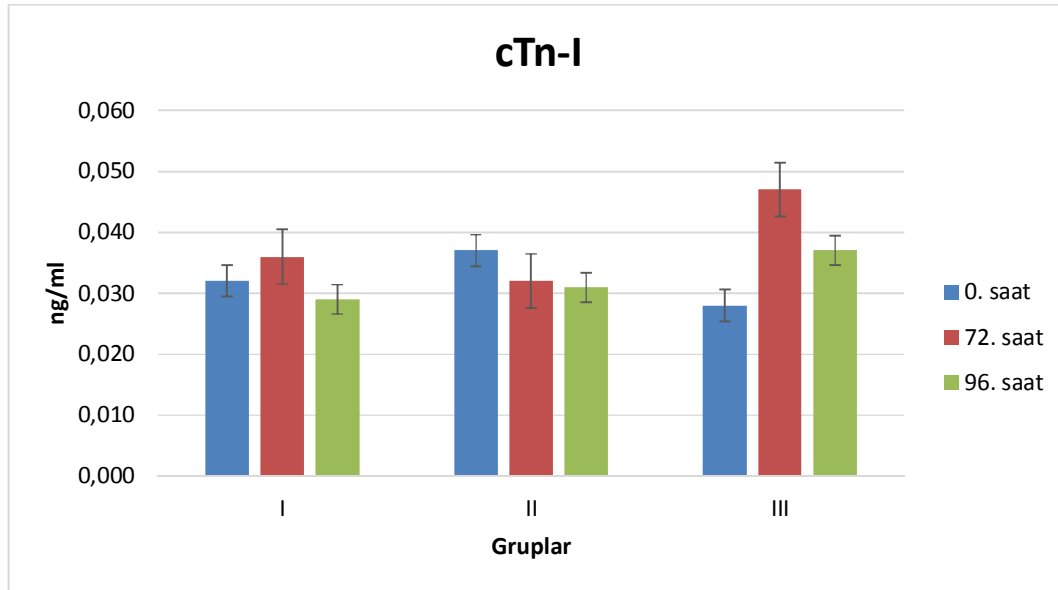
Ortalama CK-MB düzeyleri ise Grup I'de 96. saatte Grup II'de ise 72. saatte 0. saatten anlamlı düzeyde yüksek olduğu, gruplar arasında ise yine aynı saatlerdeki verilen kontrol grubundan önemli düzeyde farklı olduğu bulundu.



Şekil 4.1: Çalışma Gruplarında Kan Serumunda CK-MB Düzeylerinin Grafik ile Gösterimi



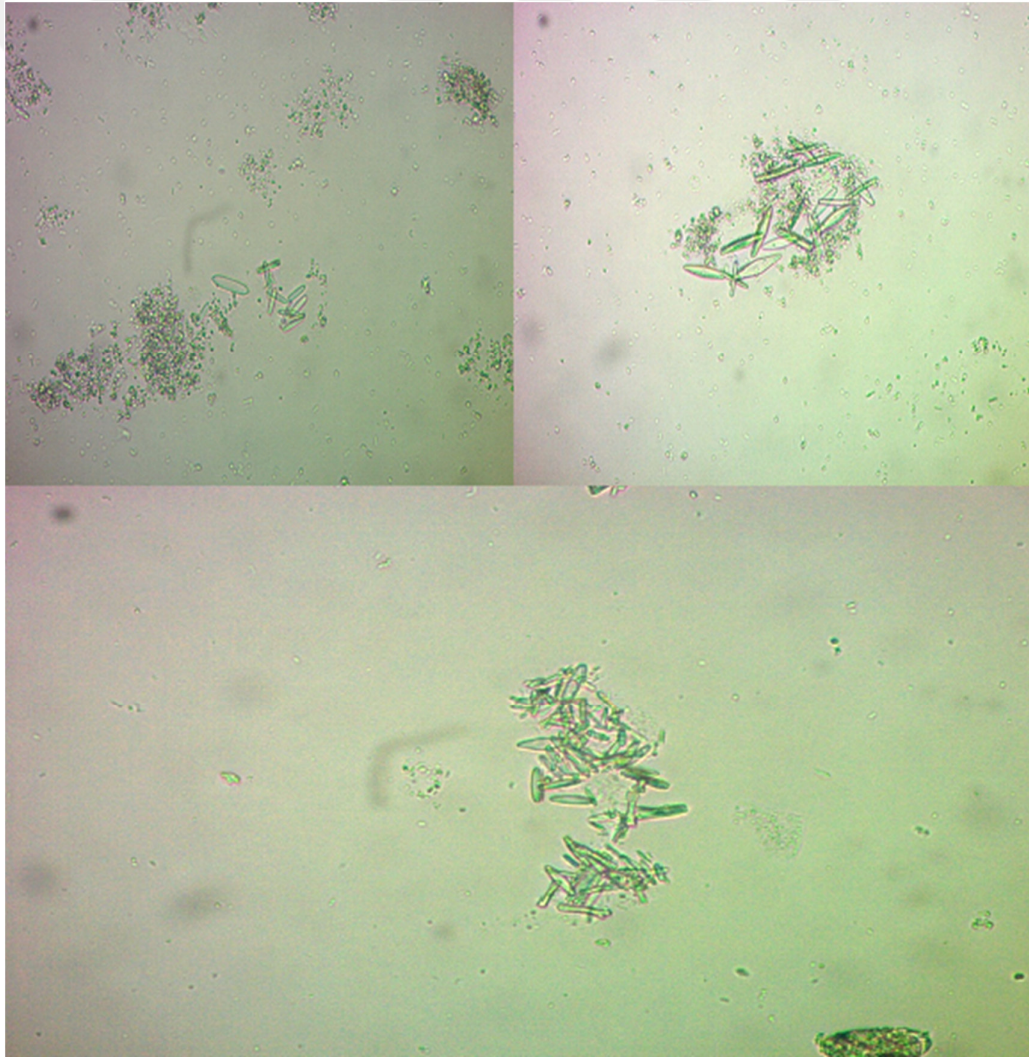
Şekil 4.2: Çalışma Gruplarında Kan Serumunda cTn-T Düzeylerinin Grafik ile Gösterimi



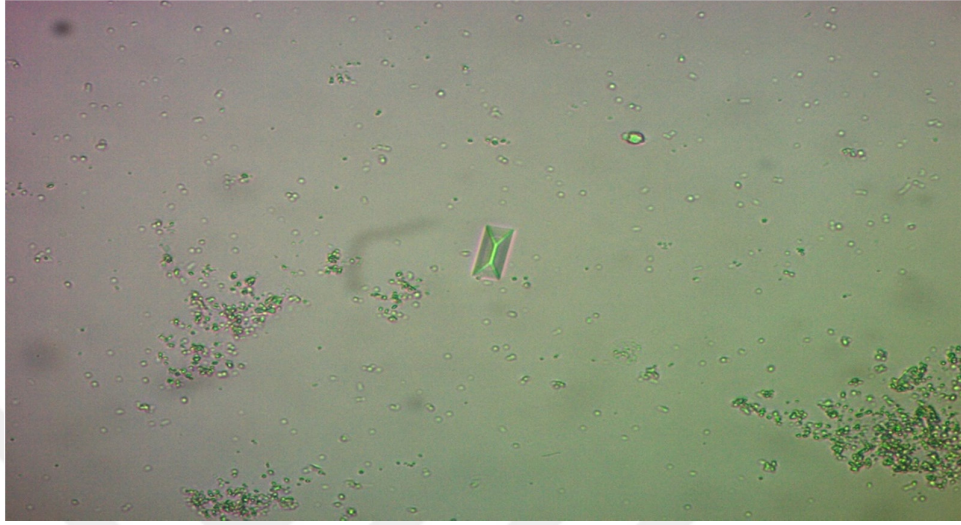
Şekil 4.3: Çalışma Gruplarında Kan Serumunda cTn-I Düzeylerinin Grafik ile Gösterimi

4.5. İdrar Analizi Bulguları

EG verilmesinden sonra Grup I ve Grup II'deki ratlardan yaklaşık 5 saat sonra masaj yöntemiyle alınan idrar numuneleri santrifüj edildikten sonra mikroskop altında yapılan muayenesinde önemli düzeyde Ca-oksalat kristalleri ve amorf kristalleri belirlendi. Görülen bu kristaller monohidrat (Resim 4.5) ve dihidrat (Resim 4.6) yapısında olan kristalleri aşağıdaki resimlerde gösterilmektedir.



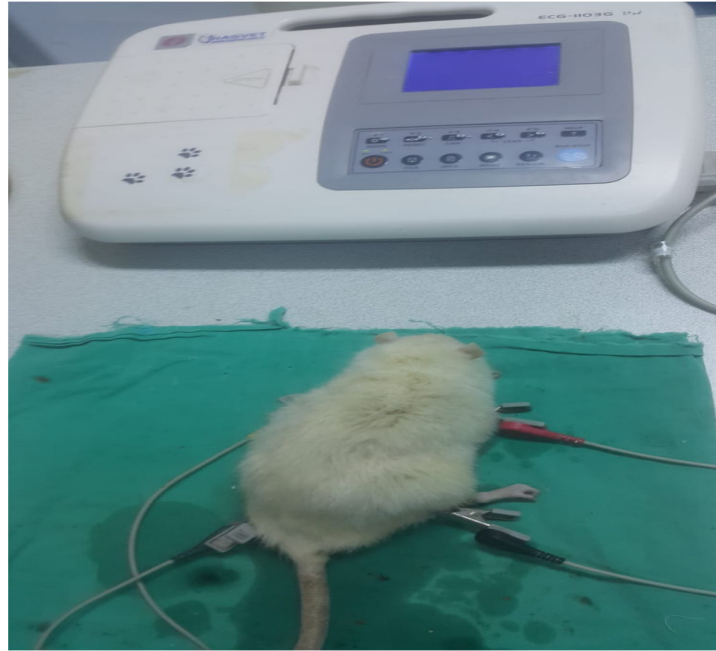
Resim 4.5: Etilen Glikol Uygulamasından Alınan İdrar Örneklerinde Meydana Gelen Ca-oksalat Kristalleri ve Amorf Kristalleri Görünümü (Monohidrat formu).



Resim 4.6: Etilen Glikol Uygulamasından Alınan İdrar Örneklerinde Meydana Gelen Ca-oksalat Kristalleri Görünümü (Dihidrat formu).

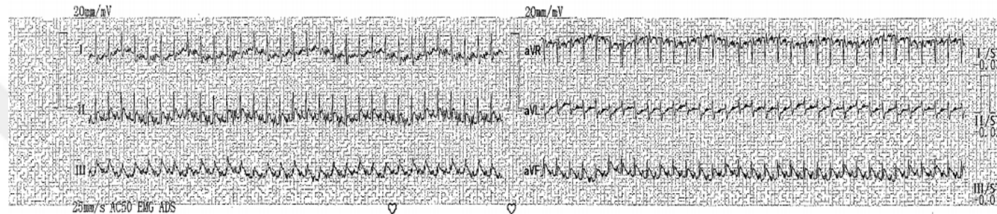
4.6. Elektrokardiyografi Analiz Bulguları

Grup I ve Grup II’de bulunan ratlarda 24 saat sonra bipolar ekstremite derivasyonları yöntemi ile EKG uygulamaları yapıldı (Resim 4.7). Elde edilen EKG sonuçları aşağıda gösterilmektedir (Resim 4.8 ve 4.9)

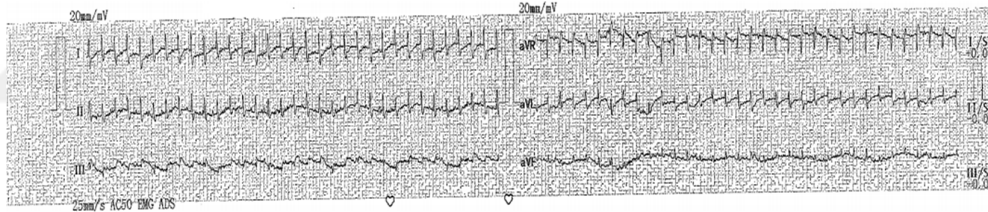


Resim 4.7: Grup I ve Grup II’deki Ratlarda EKG Uygulaması

Grup I hayvanlarından toksikasyon sonucu alınan EKG çıktıları üzerinde yapılan ölçüm aralıkları; P dalga yükseklikleri 0.10-0.12 mV ve PR aralığı 0.03- 0.04 sn, R dalgası 0.6-0.8 mV ve QRS aralığı 0.03-0.05 sn, T dalgası 0.07-0.09 mV ve ST aralığı 0.9-1 sn olarak görülmüştür. Grup II hayvanları EKG çıktıları üzerinde ise P dalga yükseklikleri 0,13-0.16 mV PR aralığı 0.06-0.08 sn R dalgası 0.65-0.80 mV ve QRS aralığı 0.03-0.05 sn T dalgası 0.10-0.13 mV ve ST aralığı 0.04-0.07 sn olarak ölçülmüştür. GI ve GII ratları EKG örnekleri aşağıdaki resimde gösterilmektedir.



Resim 4.8: Grup I'deki Ratlarda EKG Örneği



Resim 4.9: Grup II'deki Ratlarda EKG Örneği

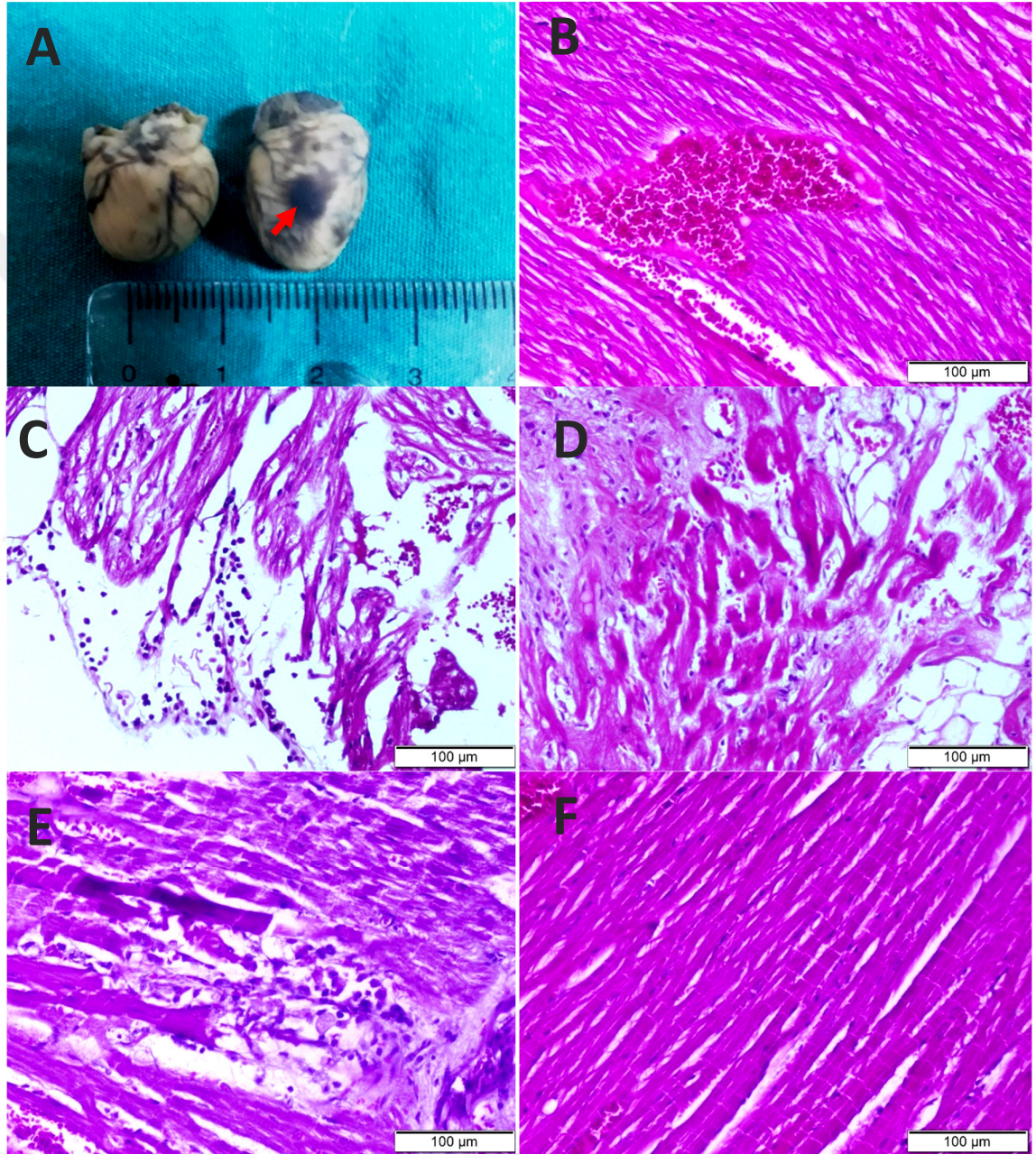
EKG yorumlamasında ise genel olarak Grup I ratlarda ortalama 2mm ST elevasyonu; Grup II ratlarda bazı vakalarda ST değişiklikleri ve bir hayvanda akut koroner sendrom görülmüştür.

4.7. Kardiyak Histopatolojik Bulgular

Nekropside alınan kalp örnekleri % 10'luk tamponlu formalinde tespit edilip rutin doku takibi işlemi uygulandı. Mikrotom ile 5-6 mikron kalınlığında seri kesitler alındı ve kesitler Hematoksilen-Eosin (HE) ile boyandı. Tüm preperatlar, dijital bir kamera (Olympus DP71) ve mikroskop (BX-51, Olympus) (x10, x40 ve x100 hedefleri kullanılarak en az 4 alan içeren) dijital programlayıcılar (DP Controller ve DP Manager) ile fotoğraflandı.

Yüksek doz grubunda bulunan ratlarda (Grup I, No:2) makroskopik olarak epikardiyal kanama gözlemlendi. Kalp kasında nekroz alanlarını çevreleyen mononükleer hücreler sub-endokard bölgesinde hücresel infiltrasyon odakları, dejenerasyon, interstisyel ödem

saptandı (No:6)(Şekil 1A-D). Düşük doz grubunda hafif mononüklere hücre infiltrasyonu gözlemlendi(No:2). Kontrol grubunu oluşturan ratlarda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 1F).



Resim 4.10: Etilen Glikol Toksikasyonu, Rat, Kalp Biyopsi. (Hematoksilen-Eosin boyama x100). (A-D) Yüksek doz grubu, (A-B) Kalp kasında kanama (sağ, ok), (C) Kalp kasında interstisyel ödem, dejenerasyon, yangısal hücre infiltrasyonu, (E) Düşük doz grubunda mononükleer hücreler.(F)Kontrol.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Antifiriz ya da etilen glikol (EG) zehirlenmelerine bağı bazı vaka ve deneysel kontrollü çalışmalarda kardiyovasküler bozuklukların da oluşabildiğı belirtilmektedir (Cavender, 2012; Saritaş ve ark., 2015; Çetinkaya ve ark., 2001; Dökmeci , 2001). Bununla birlikte EG zehirlenmelerinde oluşabilecek kardiyolojik değışikliklerin gerçek patogenezi ve oluşum mekanizması tam olarak ortaya konulmamıştır. Genellikle iki farklı mekanizmanın etkili olabileceğı öne sürölmektedir. Birincisi EG metabolitlerine bağı oluşan kristal yapılarının kalp kası ve hücrelerine doğrudan yerleşerek yapmış oldukları yıkımlayıcı etkilerdir. Bu durum primer etki olarak düşünölebilir. Diğeri ise sinir sistemi, sindirim sistemi ve üriner sistem üzerindeki EG metabolitlerinin yapmış olduğı bozucu etkilere bağı oluşan; metabolik asidozis, mineral-elektrolit imbalansı, üremi gibi patolojik değışimler sonucunda sekonder oluşan kardiyovasküler etkileşimdir (Cavender, 2012; Bischoff , 2009; Aşirdizer ve ark., 2010; Özcan , 2008).

Yukarıda belirtilen açıklamaların doğrultusunda bu çalışmada EG metabolitlerinin oluşturduğı kristal yapılarının kalp üzerinde doğrudan etkileri olup olmadığı değılendirilmiştir. Fakat ratlarda sık ve tekrarlayan yeterli hacimlerdeki örnek alımındaki zorluklar nedeniyle kardiyovasküler ve myokardial etkiler dışındaki diğeri organ ve sistemlere ait parametreler incelenememiştir. Antifiriz veya EG zehirlenmesi, Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliğı'ne göre, hayvan ölümlerinin en sık görölen ikinci nedenidir (Hornfeld ve Murphy, 1998). Bu yüksek insidans, köpekler ve kediler için hoş ve çekici bir tada ve zehirlenmeye neden olmak için gereken küçük miktardan kaynaklanmaktadır. EG zehirlenmelerinin çoğı kazara EG içeren antifirizin içilmesi ile oluşmaktadır. Zehirlenme insidansı insanlarda da oldukça yüksektir, Amerika'da her yıl yaklaşık 5.000 vaka bildirilmiştir. Çoğı kazara olup vakaların yaklaşık üçte biri çocuklarda görölmektedir (Litovitz ve ark., 1998). Polonya gibi bazı ölkelerde EG insanlarda en fazla zehirlenme nedenidir (Sienkiewicz ve Kwieciński, 1992). Bir yetişkin erkekte EG nedeniyle rapor edilen ilk zehirlenme vakası 1930'da meydana

geldiği bilinmektedir (Güneş, 1999). Ancak EG toksisitesi, 1938 yılına kadar 76 kişinin aktif maddeyi içeren bir şuruplu ilacı kullandıktan sonra öldüğü zamana kadar tam olarak anlaşılamamıştır. Bu şurup sulfanilamid ve adjuvan madde olarak % 96 dietilen glikol içeriyordu (Geiling ve Cannon, 1938). O zamandan beri, zehirlenmiş insan ve hayvanlarda birçok vaka raporu yayınlanmıştır (Thrall ve ark., 1984; Boermans ve ark., 1988).

İnsanlarda yapılan çalışmaların çoğunluğu, kazara ya da kasıtlı zehirlenmelere ya da endüstriyel ortamlarda maruz kalmaya ilişkin vaka incelemelerinin açıklamalarını temsil etse de, bunlar 60 yıldan uzun bir süredir toplanmaktadır. Hayvan çalışmaları, insan bulgularını desteklemektedir ve aynı zamanda hayvan deneyleri insanlarda yapılan gözlemleri desteklemek için nicel veri sağlamak için kullanılmıştır (Güneş 1999).

Birçok bölgede EG kaynaklı zehirlenmeler sadece insanlar tarafından değil veteriner hekimler tarafından da çok az bilinmektedir. Veteriner kliniklerinde bazı durumlarda, köpek sahipleri tarafından ihmal edilen antifriz kullanımı sonucu verilen anamneze dayalı olarak EG zehirlenmesinin varlığından şüphelenilmektedir. Ancak vakaların çoğu sorunu daha kesin bir şekilde tanımlamadan ve son halini çözmeden kaybedilmektedir (Güneş, 1999, Aşirdizer ve ark., 2010; Özcan , 2008).

EG zehirlenmesi veteriner hekimliği açısından tüm hayvanlarda görülebilen yaygın zehirlenmelerden birisi olmakla birlikte, küçük hayvanlarda çoğu zaman yüksek morbidite ve mortalite ile sonuçlanır (Hornfeld ve Murphy, 1998). Daha çok Köpek ve kedilerde yaygın olmakla birlikte (Thrall ve ark., 1984; Mueller, 1982) diğer hayvanlarda da doğru tanı ve spesifik tedavi yapılmadığı takdirde sıklıkla ölüm nedenidir (Rowland, 1987). Köpeklerde ölüm oranının % 59 ile % 70 arasında olduğu bildirilmektedir Kedilerde ise bu oranın daha da yüksek olduğu düşünülmektedir (Rowland, 1987).

DeneySEL EG toksisitesi oluşturulan ratlarda ise içme suyunda % 1 EG ile uygulanan sıçanlarda % 40 mortalite belirlenmiştir. İçme suyunda % 1 EG ile muamele edilmiş Sprague Dawley sıçanlarında da ölüm olduğu bildirilmiştir (Khan, 1997).

Clark ve ark., (1979), dişi F344 sıçanlarında tek doz oral 4.000 mg/kg EG'ün LD50 olduğu belirlemiştir. Khan (1997), tek bir oral dozda 12.900 mg/kg EG uygulanan erkek Wistar sıçanlarında % 55 mortaliteye ise 48 saatte ulaşılmıştır. Bu projede ise Grup I de 6000 mg/kg EG verilen Sprague Dawley cinsi ratlardaki ölüm oranlarının (% 60) ise

yukarıdaki belirtilen mortalite oranlarıyla benzerlikler gösterdiği söylenebilir. Zira daha düşük doz olan 3000 mg/kg EG verilen ratlarda ise mortalite oranının % 30 düzeyine indiği ve bunun sonucu önceki çalışmalardan farklı olduğu gözlenmiş olup doza bağlı ölüm oranlarında farklılıkları açıklamaktadır.

Khan (1997), içme suyunda % 1 EG uygulanan Sprague Dawley sıçanlarında % 40 mortalite görüldüğünü bildirilmiştir. Cruzan ve ark. (2004), yaptıkları bir çalışmada 16 hafta boyunca 1.000 mg/kg/gün kadar orta süreli diyet maruziyeti uyguladığı erkek Wistar sıçanlarında % 20 mortaliteye neden olduğunu bildirilmişler, ancak dişiler test edilmemiştir. Melnick (1984), ise yaptığı çalışmada 5.000 mg/kg/gün EG verilen erkek F344/N sıçanlar, 13 hafta sonra % 40 mortaliteye sahipken, benzer şekilde uygulamaya alınan dişilerin ölmediğini bildirmiştir. Bu tez çalışmasında ise çalışmada kullanılan dişi hayvanlarda kardiyovasküler açıdan beklenen sonuçların elde edilememesi ve ölüm oranlarındaki düşüklük dişilerin EG toksikasyonuna daha dirençli olduğunu düşündürmektedir.

Bu tez projesinde bu denli önemli olan EG zehirlenmelerinde daha az bilinen kalp kası üzerindeki EG'ün etkileri araştırılmıştır. Bir çok vaka ya da çalışmada böbrek fonksiyonları, MSS etkileri belirlenmesine rağmen kardiyolojik etkiler tam olarak ortaya konulmamıştır (Kim ve ark., 2010). Halbuki bazı vaka raporlarında tekrarlayan kardiyak aritmiler ve kardiyojenik şok gelişebildiği rapor edilmiştir (Chung ve Tusso 1989; Jobard et al. 1996; Walder ve Tyler 1994). Ayrıca EG'ün akut alımını takiben ölen kişilerde yapılan otopside miyokardit tablosu da gözlenen bulgulardan bir diğeridir (Friedman ve ark. 1962). Solunum yolu etkilerinde olduğu gibi, kardiyovasküler tutulum da göreceli olarak yüksek dozlarda EG alınması ile gerçekleşir. Buna rağmen dolaşım bozuklukları, ciddi derecede zehirlenmiş 36 vakanın sadece 8'inde bildirilmiştir (Karlsonstiber ve Persson 1992). Sonuç olarak yüksek EG seviyelerine maruz kalan insanlarda ciddi kardiyovasküler etkilerin olabileceği görülmektedir.

Klinik bulgular doza ve zamana bağlıdır ve metabolize olan EG'ün toksik metabolitlerinden kaynaklanır. Klinik belirtilerin başlangıcı neredeyse alımı takiben hızlıca gerçekleşir ve çoğunlukla bir alkol (etanol) zehirlenmesini andırır (Güneş, 1999; Çelebi, 1999; Cavender, 2012).

Antifirize dermal maruz kalma, antifriz değiştirme gibi faaliyetler yoluyla EG'e maruz kalmanın en muhtemel yoludur, ancak dermal maruz kalmanın toksik etkilere yol açma olasılığı yoktur. Yanlışlıkla veya kasıtlı olarak yutulması ve daha sonra sadece bir seferde yeterli miktarda yutulduğunda yalnızca oral maruz kalmanın klinik belirtilere yol açması muhtemeldir (Cavender, 2012).

Köpekler ve kediler, gastrointestinal kanalda tahriş nedeniyle kusma, polidipsi, poliüri ve nörolojik bulgular (MSS depresyonu, sersemlik, ataksi, tekmeleme, azalmış geri çekilme ve hafif refleksler) gösterir. Polidipsi, susuzluk merkezinin ozmotik stimölasyonu nedeniyle oluşur ve poliüri, ozmotik bir diürez ve antidiüretik hormonun üretimi ve salımının azalması nedeniyle oluşur. MSS depresyonu şiddeti arttıkça köpekler ve kediler daha az su içer. Bununla birlikte, ozmotik diürez devam eder ve dehidrasyonla sonuçlanır. Köpeklerin EG alımından 12 saat sonra bu MSS belirtilerinden geçici olarak iyileşebildiği de görölür (Gregory, 2019).

Oligurik akut böbrek yetmezliği genellikle kedilerde 12 ile 24 saat arasında ve köpeklerde 36 ile 72 saat arasında gelişir. Belirtiler arasında uyuşukluk, anoreksi, dehidrasyon, kusma, ishal, oral ülserler, tükürük salgılaması, taşıpne ve muhtemelen nöbet veya koma bulunur. Böbrekler genellikle karın palpasyonu üzerine şiş ve ağrılıdır (Gregory, 2019).

EG'yi alan domuzlar ise genellikle depresyonda olduğu, zayıf ve hareket etmeye karşı isteksizdirler. boğuşma, arka ataksi, titreme, çöküş, abdominal distansiyon, pulmoner ödem ve boğuk kalp sesleri yaygın sekellerdir. Kanatlılar uykulu, ataksik, dispneik ve yaslanmış hale gelebilir; tortikolis, karışık tüyler ve sulu dışkı görölür. Sığırlar depresyonda, taşıpneik ve ataksik hale gelebilir ve paraparezi veya letarji geliştirebilir. Epistaksis ve hemoglobinüri de büyük miktarda EG almış olan sığırlarda görölmüştür. EG toksisitesi üzerine ilk araştırmalardan olan ve tavşanlar üzerinde EG'ün etkilerini araştıran Carpenter ve Smyth (1946), tavşanların gözlerinin içine EG damlatmış ve kayda değer bir tahrişe neden olmadığını bildirmişlerdir. Başka araştırmacılar ise fareleri 5 gün boyunca 28 saat süreyle EG ile doymuş (0.5 mg / L) bir ortama maruz bırakarak ortamdaki havanın solunmasını sağlamışlar ve sonuçta hafif bir MSS depresyonu meydana geldiğini ayrıca ölümle karşılaşmadıklarını bildirmişlerdir (Cavender, 2012; Bischoff, 2009; Dökmeci, 2001). EG solunması halinde insanlarda ölüm olduğuna dair hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte 90 gün boyunca

sürekli olarak tüm vücuda 12 mg/m³ aerosol EG'e maruz kalan hayvanlardan köpek ve maymunlarda ölüm gözlenmez iken; ¹/₁₅ sıçan, ¹/₅ gine domuzu, ¹/₃ tavşanda ölüm oranları meydana gelmiştir. Fakat etkilenen hayvanların hiçbirinin EG zehirlenmesine ait herhangi bir özel toksisite belirtisi göstermediği bildirilmektedir (Rakun ve ark., 1970). Fakat Wills ve ark. (1974), kontrollü bir çalışmada 30 gün süresince günde 20-22 saat EG aerosolüne maruz kalan 19 gönüllüde tolere edilebilir burun ve boğaz tahrişini rapor etmiştir.

Solunum sistemi tutulumu, yeterli miktarda EG alımından 12 ila 24 saat sonra meydana gelir ve bu belirti EG zehirlenmesinde ikinci bir aşama kabul edilir (Cavender, 2012; Hess ve ark., 2004). Semptomlar hiperventilasyonu, yüzeysel hızlı soluma ve zaman zaman akciğer parankiminde bulunan kalsiyum oksalat kristalleri ile pulmoner ödemi içerir (Godolphin, ve ark., 1980; Woolf ve ark., 1992; Gordon ve Hunter, 1982; Zeiss ve ark., 1989; Leth ve Gregersen, 2005; Sperling ve ark., 2006). Kersting ve Nielsen (1965), yaptığı çalışmada ise zehirlenme sonrası 13-23. saatlerde yukarıdaki bulgularla uyumlu olarak ratların tamamında hiperventilasyon belirlemişlerdir. Bu süre içerisinde ölen ratlarda yapılan nekropside makroskopik bulgular olarak göğüs boşluğunda hafif sıvı birikimi ve akciğerlerinde ödem bulgularına rastlanmış olup, hiperventilasyonun bu nedenle oluştuğu ortaya konulmuştur. Öldürücü miktarda EG tüketen köpeklerde pulmoner hiperemi ve ödem sık rastlanan bulgular olduğu belirtilmektedir. Ratlarda da aynı bulgular bu çalışmayla ortaya konulmuştur. Fakat kalp dışında herhangi bir organda histopatolojik inceleme yapılmamıştır. Makroskopik olarak gözlenen yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olduğu yorumlanan ödem tablosu böbrek ve akciğerlerde bilhassa yüksek doz EG verilen Grup I'de gözlenmiştir.

Etilen glikolün sıçanlarda böbrek toksisitesine neden olduğu varsayılmış etki şekli, EG'un oksalik asite metabolizması ve oksalik asidin kalsiyum ile çöktürülmesidir. Oksalik asit, sıçan böbreklerinde etilen glikolden oluşmuş gibi görünmemektedir, bu da karaciğerden taşınması gerektiğini göstermektedir (Liao ve Richardson, 1972). Oksalik asit, sulu sistemlerde çok düşük bir çözünürlüğe sahiptir; dolayısıyla, oksalik asitin kan seviyeleri tipik olarak, dozdan bağımsız olarak 10-20 mg/L'nin (0.1-0.2 mM) üzerine çıkmaz. Oksalat iyonları idrardaki boşluktan önce konsantre hale geldiklerinden, kalsiyum iyonlarıyla çökebilirler ve bu, renal tübül epitelinde çözünmeyen kalsiyum

oksalat kristallerinin büyümesine yol açar (Burgess ve Drasdo, 1993; Pottenger ve ark., 2001; Cruzan ve ark., 2004).

Bir çalışmada, 150, 500 ve 1000 mg/kg/gün dozlarında EG alan Wistar sıçanlarının idrarında kalsiyum oksalat kristalleri görülmüş, ancak sadece 500 ve 1000 mg/kg/gün oranında EG alan sıçanların böbreklerinde kristaller görülmüştür. Ancak 500 mg/kg/gün dozda EG alan 10 sıçanın sadece 1 tanesinde, diğer gruptaki sıçanların 10'unda böbrek parankimi içerisinde kristaller gözlenmiştir. Böylece, kalsiyum oksalat kristalleri böbreklerde tespit edilmeksizin tübül lümeni ve böbrek patolojisi olmadan idrarda bulunabilir. Araştırmacılar, renal tübül lümenindeki kalsiyum oksalat kristallerinin, hücre ölümüne yol açan böbrek hücre hasarı ile sonuçlandığına inanmaktadır. Daha fazla böbrek yetmezliği arttıkça, normal böbrek suyu düzenlemesi, artan idrar hacmi ve azalmış idrar özgül ağırlığı ile kanıtlandığı gibi, su tüketiminin artmasına neden olarak tehlikeye girer. EG'ün kendisi, renal tübüllerde ozmotik bir diüretik olarak da işlev görebilir, bu da artan hacime ve idrarın özgül ağırlığının azalmasına katkıda bulunur (Cruzan ve ark., 2004). Bu projede EG zehirlenmesine maruz bırakılan ratlarda idrarda yalnız Ca-oksalat kristalleri görülmüş, farklı bir idrar sediment bulgusuna rastlanmamıştır. Verilen dozlarda EG'ün Sprague Dawley ratlardan böbrek ve tübül hasarına yol açmadığı ve böbrekte kristal oluşumuna neden olmadığını göstermiştir.

Bu projede yüksek doz grup I de 6 ml/kg, diğer grupta ise 3 ml/kg uygulanmıştır. Ratlarda LD'un 0.99 mg/ml içeren EG çözeltisinden 5.5-7.7 ml/kg alınması halinde oluşacağı bildirilmektedir. Bu projede elde edilen klinik belirtilerin başlama zamanı, ölüm oranları hem deneysel çalışmalardan hem de insan ve hayvanlardaki vaka çalışmalarından elde edilen bulgularla uyumludur (Güneş, 1999; Cavender, 2012; Ünsüren ve ark., 1987; Civelek ve ark., 2006; Sarıtaş ve ark., 2015; Çetinkaya ve ark., 2001). Zira Ratlarda gözlenen belirtiler; sarhoşluk hali, uyuklama, sallantılı yürüyüş, arka bacakları çekememe, poliüri, anoreksi, dehidrasyon ve genel durgunluktu ve bu belirtiler Civelek T. ve ark.,(1987) ve Ünsüren ve ark.(2006) tarafından yapılan çalışmalarda gözlenen belirtiler ile tamamıyla uyumlu görülmüştür. Dolayısıyla ratlarda verilen dozlarda EG toksikasyonu gerçekleştirilebilmiştir.

İnsanlarda EG alımını takiben 3 evre halinde klinik belirtilerin oluştuğu rapor edilmiştir (Sarıtaş ve ark., 2015). Birinci dönem olarak adlandırılan evre, EG alımını takiben 0.5-12 saat sonra bulantı, kusma, sarhoşluk, MSS depresyonu, koma, hipotoni, reflekslerde

azalma, konvülziyon, 12-24 saat sonra ikinci dönemde Taşikardi, taşipne, hipertansiyon, hiperventilasyon, hipoksi, konjestif kalp yetmezliği, akut solunum depresyonu, son dönem olan üçüncü evrede (24-72 saat) ise böbrek yetmezliği ile birlikte anüri, oligüri, hematüri ve proteinüri bulunduğu belirtilmektedir (Saritaş ve ark., 2015; Aşırdizer ve ark., 2010; Demirel ve ark., 2012)

Köpekler üzerinde yürütülen çalışmalarda ise 13 ml/kg EG verilen köpeklerde; ilk altı saat içinde taşipne, taşikardi ile aralıklı gözlenen ataksi bulguları olduğu, 12 saat sonra ise; inkoordinasyon, durgunluk ve depresyon geliştiği, 24. saatte ise koma belirtilerinin olduğu bildirilmiştir (Güneş, 1999; Ünsüren ve ark., 1987). Ratlar üzerinde deneysel gerçekleştirilen bu çalışmada EG zehirlenmesine ait başlıca klinik semptomlar ortaya konulmuştur. EG, GİS'den hızla emilir ve MSS depresyonu ve gastrointestinal belirtiler dahil olmak üzere klinik zehirlenme belirtileri maruziyetin 30 dakikası içinde görülebilir. Hayvanlarda belirlenen başlıca zehirlenme belirtileri düşük doz EG verilen ratlarda 45. dakikada yüksek doz verilenlerde ise 30 dakika içerisinde ilk kez ortaya çıkmıştır. Başlıca belirtiler sarhoşluk hali ve uyuklama, sallantılı yürüyüş, arka bacakları çekememe, poliüri, anoreksi, dehidrasyon ve genel durgunluk halidir. Bu belirtiler daha önceki deneysel çalışmalarda ortaya konulan poliüri, depresif refleksler, arka bacakları çekememe, anoreksi gibi bulgularla uyumlu olduğu görülmüştür (Güneş, 1999; Cavender, 2012; Lee, ve ark., 2017; Dial ve ark., 1989).

EG zehirlenmesi doz, alınma şekline ve zamana bağlı biçimde değişkenlik gösterebilir. DePass ve ark. (1986) 24 ay boyunca 200 mg/kg/gün dozunda EG verilen sıçanlarda oksalat kristal nefropatisinin görülmediğini bildirmiştir. Öte yandan, Gaunt ve ark. (1974) ise Wistar sıçanlarında çalışmanın tüm erkek sıçanlarda 715 mg/kg/gün EG verilmesi halinde nefropati ürettiği, 15 hayvandan 1 inde ise 180 mg/kg/gün verilenlerde oksalat kristalli renal lezyonlar geliştirdiği bildirildi. Bu iki çalışmada farklı dozaj prosedürleri (yemde sabit konsantrasyon [azalan doz] ile sabit doz [konsantrasyon artan]), farklı diyetler, patoloji tanıları için farklı kriterler ve farklı sıçan türleri kullanıldı. Bu nedenle, farklılıkların olması beklenebilir.

EG zehirlenmesi, akut böbrek hasarının en yaygın nedenlerinden biridir ve evcil hayvanlarda en sık görülen zehirlenmedir. Antifriz, ana maruz kalma kaynağıdır, ancak EG, temizlik ürünleri, vernikler, kozmetikler ve aromatik özütler dahil olmak üzere çeşitli ev ürünlerinde de kullanılır (Güneş, 1999; Corley ve ark., 2005). EG bu şekilde

doğrudan nefrotoksik değildir ancak metabolitleri (glikoldehitler, glikolik asit, glikolat ve oksalik asit) böbrek hasarının nedenleridir (Grave ve Boag, 2010). Toksisite ortaya çıktıkça, etilen glikolün hepatik metabolizmasından kaynaklanan glikolik asit ve diğer metabolitler, derin bir metabolik asidoz ve akut böbrek hasarına, bu toksisitenin belirleyici özelliklerine neden olabilir (Popa ve ark., 2018).

Böbrek hasarı, karaciğerde EG'ün metabolik dönüşümü, okzalik asidin böbreklere yavaş taşınması (düşük kan çözünürlüğü nedeniyle) ve ortaya çıkan oksalik asitin kalsiyum ile çökeltilmesinden sonra meydana gelir. Bu hasar geriye dönüşümlüdür, böbreklere verilen hasar azaltılabilir veya önlenir. Böbrek tübülündeki kalsiyum oksalat kristallerinin varlığı, o bölgedeki normal böbrek fonksiyonunu önler ve hücre ölümüne yol açar. Sonunda böbrek fonksiyonları azaltılmış bir kapasiteye sahip olacak şekilde tehlikeye girebilir. Bu durumda daha yüksek oksalik asit ve kalsiyum oksalat yükü böbrek yükü oluşturur. Böbrek dokularında tespit edilen okzalik asit, esasen Ca-oksallattan oluşmaktadır (Brent ve ark., 1999). Ca-oksalat kristalüri, sırasıyla kedi ve köpeklerde yutulduktan 3 ve 6 saat sonra gözlenebilir. Monohidrat Ca-oksalat kristalleri (berrak, 6 taraflı prizmalar) dihidrat Ca-oksalat kristallerinden (Malta haçı veya zarf şeklindeki) daha yaygındır. Serum ve idrardaki EG konsantrasyonları, alımdan 1-2 saat sonra tespit edilebilir. Ca-oksalat kristalleri ise idrarda alımdan 3 saat sonra ortaya çıkabilir. Bununla birlikte oksalat kristallerinin olmaması EG zehirlenmesini dışlamaz (Cavender,2012; Bischoff, 2009). Bu projede ise Sprague Dawley ırkı ratlarda iki farklı dozda EG verilmesine rağmen her iki grupta da elde edilen idrarlarda EG zehirlenmesine ait Ca-oksalat kristalleri belirlenmiştir (Resim 4.5 ve 4.6). Bu kristaller Ca-oksalat kristalleri çift kırılım ve zarf şeklinde 3-8. saatlerde gözlenmiştir. Bu kristallerin böbrek tubulus hasarına yol açması yukarıda belirtilen literatürler ışığında beklenen bir sonuçtur.

Deneyssel kontrollü çalışmalarda ve vaka raporlarında EG toksikasyonlarında tüm canlılarda birbirine çok benzeyen biyokimyasal bulgular elde edilir. Genellikle yaklaşık 12 saat düşük idrar özgül ağırlığı (EG ile indüklenen ozmotik diürez nedeniyle), proteinüri, glukozüri, hematüri ve albuminüri nedeniyle vardır. Ayrıca, BUN ve kreatinin düzeyi artar. Ayrıca hiperglisemi, hipokalsemi (kalsiyumun oksalat bağlanmasına bağlı olarak), hiperfosfataemi ve hiperkalemi (akut böbrek hasarı ve asidoz nedeniyle) olabilir. Metabolik asidoz meydana geldiğinde, aktif, iyonize

kalsiyum formuna geçiş nedeniyle EG zehirlenmesinde klinik hipokalsemi belirtileri genellikle görülmez. Nötrofil lökositoz da gözlenebilir (Connally ve ark., 2010; Thrall ve ark., 1984).

Bu projede farklı doz kullanımına bağlı ortak ve yaygın biyokimyasal bulgular elde edilmiştir. Her ne kadar ratlarda kan gazı analizleri ve fosfor ölçümleri yapılamamış olsa da hipokalsemi, hiperkalemi, BUN ve kreatinin düzeylerinde grup I ve II de kontrol grubuna göre ve EG verilmeden önceki değerlere göre istatistiksel açıdan önemli oranda değişiklikler izlenmiştir (Resim 4.2). Bu açıdan önceki raporlarla uyumlu olması nedeniyle EG toksikasyonunun belirtilen dozlarda bu çalışma gruplarında deneysel olarak olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca kan biyokimya ve idrar analizi bulguları bu çalışmada elde edilen klinik bulguları da destekler mahiyettedir. İdrar okzalat kristalleri oluşumu bu bulguları da önemli ölçüde destekleyen bir diğer önemli bulgudur.

Teşhis spesifik olmayan multisistemik bulgular diğer MSS hastalığı veya travma, gastroenterit, pankreatit, ketoasidotik diabetes mellitus ve renal iskemiye veya diğer nefrotoksiklere bağlı akut böbrek yetmezliğine benzer görünebileceği için sıklıkla zordur. EG'nin alımına şahit olunmazsa, tanı genellikle anamnez, fiziksel muayene ve laboratuvar verilerinin kombinasyonuna dayanır. EG'nin toksik dozu alımından 3 saat içinde köpekler ve kediler, artan anyon gap, asgari pH'lı minimal konsantre veya izostenürik idrar ve yüksek ozmolal gap olan belirgin serum hipermolazitesi ile normokloremik metabolik asidoz geliştirir. Serum osmolalitesi 3 saat EG alımından sonra normalin üstünde (280–310 mOsm/kg) 100 mOsm/kg'a kadar yükseltilebilir. Ölçülen ve hesaplanan $(1.86 [Na^{++}, K^{+}] + \text{glikoz}/18 + \text{BUN}/2.8 + 9)$ osmolalitesi arasındaki farka osmolal gap denir. Bu farka, serumda yukarıdaki denklemde yer almayan ozmotik olarak aktif parçacıkların (örneğin EG) varlığı neden olur (Güneş, 1999; Alkan ve ark., 1995; Cavender, 2012; Thrall ve Hamar, 2012). Ticari test kitleri EG 50 mg/dL serum EG konsantrasyonlarını tespit edebilir. Bazı antifriz preparatları, bir Wood lambasının altına bakıldığında parlak sarı-yeşil görünen floresan içerir. İdrar floresanı, insanlarda şüpheli EG oluşumlarında nitel bir yardımcı test olarak kullanılmıştır ve veteriner tıbbında değerli olabilir. Hiperfosfatemi, köpeklerde fosfat pas önleyicileri içeren ticari antifriz çözeltilerinin alımından sonraki 3 saat içinde görülmüştür. Bu hiperfosfatemi, EG'nin neden olduğu akut böbrek yetmezliği ve azoteminin

başlamasından önce düzelir, daha sonra hayvan azotemik olduğunda tekrarlar (Thrall ve Hamar, 2012; Bischoff, 2009; Meuten, 2012).

Tübüler lümen içindeki kalsiyum oksalat kristalleri ile böbrek tübüler epitel nekrozu, EG zehirlenmesinin karakteristik bulgusudur. Kalsiyum oksalat kristalleri polarize ışıkla bakıldığında çift kırılmalı görünürler. Akciğer ödemi ve hemorajik gastroenterit, köpek ve kedilerde sık görülen ikincil bulgulardır. Domuzlar ve sığırlar sıklıkla böbrek ve perirenal ödem geliştirir. Domuzlar ayrıca plevral ve peritoneal boşluklarda sıvı birikimi ile pulmoner ödem içerebilir. Kanatlılarda genellikle makroskobik lezyonlar gelişmez (Gregory, 2019).

Ratlarda yapılan genel nekropsi değerlendirilmesinde elde edilen bulgular ölen iki adet hayvanda makroskobik olarak kalp kasında epikardiyal kanamalar ve solgun böbrekler tarzında görülmüştür. Bu bulgular önceki çalışmalardan elde edilenlerle benzerlik göstermektedir. Bir vaka raporunda ölen bir erkek zehirlenme vakasında nekropsi yapılmış ve histopatoloji bulgularında kalpte -coronaro-myocardiosclerosis belirlenmiştir (Judea-Pusta ve ark., 2018).

Tez çalışmasında, HE boyası kullanarak kalplerin histolojik incelemeleri, EG verilen ratlarda deneyin sonlandırıldığı 96. saatte toplandı. Bu alınan kalplerde bir takım değişikliklerin oluşabildiği gözlenmiştir. Bu değişiklikler, yüksek dozda EG verilen ratlarda intersitisyel ödem, dejenerasyon, sub-endokard bölgesinde hücresel infiltrasyon, nekroz alanlarını çevreleyen mononükleer hücreler; düşük doz grubu ratlarda ise hafif mononükleer hücre infiltrasyonu olarak gözlemlenmiştir (Resim 4.8).

İzoprenalin verilen ratlarda sınırlı kas lifi dejenerasyonu, interstisyel ödem ve hafif nötrofilik infiltrasyondan oluştuğu bildirilmektedir ve tedaviden 24 saat sonra sakrifiye edilen tüm izoprenalin ile tedavi edilen sıçanlarda tespit edilmiştir. Preus ve ark.'nın (1988) belirttiği gibi, HE boyasını kullanarak yapılan histolojik incelemelerin 6 saat önce erken miyokard hasarını tespit edecek kadar hassas olmaması muhtemeldir. Öte yandan, salin enjeksiyonundan 24 ve 48 saat sonra feda edilen 11 kontrol faresinden dördü, izoprenalin farelerinde görüldüğü gibi hafif dejeneratif değişikliklerin kanıtı gösterdi. Bleuel ve ark. (1995), 24 ve 96 saatte feda edilen kontrol sıçanlarının yarısında, akut dejeneratif değişiklikler veya izoprenalin sıçanlarında görüldüğü gibi onarıcı değişiklikler kanıtı olmadan hafif miyokard değişikliklerini gösterdi. Kontrollerdeki histolojik değişiklikler muhtemelen selektif V. jugularis kanülasyonu ve

tekrarlanan kan örneklemesinden sonra hipoperfüzyon ve stres kaynaklı taşikardiden kaynaklanabildiği ifade edilmektedir (Cox ve Phillips, 2004; Nițescu ve ark., 2013).

Bununla birlikte inhalasyon yoluyla ya da düşük dozlarda herhangi bir histopatolojik lezyonunun oluşmayacağını bildiren makaleler de bulunmakla birlikte (Schlady ve ark., 1998; Melnick, 1984), 3000 ve 6000 mg/kg dozunda uygulanan EG ün kalp kası hasarı oluşturduğuna dair deliller mevcut olup (Friedman ve ark., 1962; Imazio ve Trincherio, 2009) bazı çalışmalardan elde edilen bulguları destekler mahiyettedir. Kardiyak tutulumun semptomları taşikardi, ventriküler gallop ve kalp büyümesidir. 4.071 mg/kg EG alan 22 yaşındaki bir erkekte kalp durması ve ölümden önce tekrarlanan kardiyak aritmilerin de gözlemlendiği bildirilmiştir (Parry ve Wallach, 1974; Friedman ve ark., 1962; Verrilli ve ark., 1987).

Bu çalışmada EG alımından 8 saat sonra diğer klinik belirtilerle birlikte taşikardi ve aritmi taplosu da gözlenmiştir. Heriki gruptan alınan EKG bulguları ile bu değişiklikler de doğrulanmıştır (Resim 4.9).

EG'ün yutulması aynı zamanda kardiyojenik şoka neden olabilecek hipertansiyon veya hipotansiyona da neden olabilir (Chung ve Tusio, 1989; Jobard ve ark., 1996; Morgan ve ark., 2000; Walder ve Tyler, 1994). EG'ün akut alımından sonra ölen kişilerde otopside miyokardit gözlenmiştir (Friedman ve ark., 1962). Solunum yolu etkilerinde olduğu gibi, kardiyovasküler tutulum da göreceli olarak yüksek dozlarda EG alınması ile gerçekleşir. Yine de, dolaşım bozuklukları, ciddi derecede zehirlenmiş 36 vakanın sadece 8'inde bildirilen nadir bir olay olduğu belirtilmektedir (Karlsonstiber ve Persson, 1992). Bu çalışmada ise histopatolojik olarak yüksek doz alan ratlarda kalp kasında epikardiyal kanama, nekroz alanlarını çevreleyen mononükleer hücreler ve intersitisyel ödem gözlenmiş, diğer grupta ise hafif mononükleer hücre infiltrasyonu bulguları gözlenmiştir. İnsanlarda yüksek dozlar bu etkilere yol açsa da uzun süreli, düşük dozlu bir maruz kalmanın etkileri bilinmemektedir. Schlady ve ark. (1998) 1 yıl boyunca 1.000 mg/kg/gün maruz kalan erkek F344 sıçanlarında Kalbi de kapsayan genelleştirilmiş yumuşak doku mineralizasyonu (damarlar ve kas) meydana geldiğini bildirmiştir. Buna rağmen kalbin histolojik muayenesinde 4 hafta boyunca gavaj ile 2.000 mg/kg/gün maruz kalan Wistar sıçanlarında ve Melnick ve ark. (1984) çalışmalarında F344 sıçanlarda 13 hafta boyunca 10.000 mg/kg/gün maruz bırakmış ancak hiçbir etkinin de görülmediği bildirilmektedir Schlady ve ark. (1998) bu sonucu desteklemişlerdir. Fakat

bu çalışmadaki bulgular, ölüm oranları, klinik belirtiler ve diğer analiz bulguları dikkate alındığında yukarıdaki araştırmacıların elde ettiği bulguları ile uyumlu olmadığı belirlenmiştir. Bu sebebin doz farklılığından ve kullanılan farklı hayvan türlerinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Kalp yetmezliği ve solunum sıkıntısı gibi kardiyopulmoner belirtiler, alımdan 12 ila 24 saat sonra ortaya çıkar ve derin metabolik asidozdan kaynaklanır. Bu nedenle, bu aşamada, neredeyse tüm organ sistemleri etkilenir ve çoklu sistem arızası gelişebilir. Ölümün çoğu ikinci aşamada meydana gelir (Thrall ve ark., 2008). Üçüncü aşama, ilk EG alımdan 24 saat sonra meydana gelen böbrek komplikasyonları ile karakterize edilir. Oligurik veya anürik böbrek yetmezliği 1 ay veya daha fazla sürebilir. Böbrek yetmezliği genellikle akut ve tekrarlanan hemodiyaliz uygulamasını gerektirir (Çetinkaya, ve ark., 2001; Aytuğ, 2012).

EG zehirlenmesine maruz kalan 29 yaşındaki bir kadında, acil servise geldikten sonra tipik EG zehirlenmesinden sonra görülen mide bulantısı ve kusma gibi mide bağırsak belirtileri ile uyku hali, ataksi ve konfüzyon gibi nörolojik semptomlar gözlenmiştir. Ciddi metabolik asidoz ve akut böbrek yetmezliği de gelişmiştir. Hastanın durumu nedeniyle 6 saat sonra kardiyopulmoner dekompanasyon ve mekanik ventilasyonu içeren kapsamlı bakım ile 20 günden fazla bir süre boyunca hemodiyaliz uygulanmıştır. Yukarıdaki semptomlara ek olarak, perikardiyal efüzyonla ve ardından kardiyak tamponadı ile akut perikardit gelişmiştir. Perikardiyal sıvı analizi eksüdatif bir efüzyon varlığını ortaya konulmuştur. Efüzyon, malignite veya bakteri belirtisi olmayan koyu kahverengi seröz bir sıvıydı. Perikardiyal sıvının sitolojik incelemesinde sadece kronik inflamasyon görüldü. Hastaya başvuru sonrası sürekli hemodiyaliz uygulanmış olmasına rağmen, serum kan üre azotu ve kreatinin seviyeleri bu dönemde nispeten yüksek kalmıştır. Bu nedenle, renal replasman tedavisi, artmış serum üre ve kreatinin seviyelerine orta derecede yansıdığı ancak hastada tam olarak etkili olmamıştı. Çekilen seri akciğer grafilerinde perikardiyal efüzyonlu akut perikardit ile ilişkili olan ilerleyici bir kardiyomegali gösterilmiştir Bu vakanın ilginç bir bulgusu da subklinik miyokarditle birlikte perikardit oluşumuydu. Etilen glikol zehirlenmesinden sonra miyokardit gelişimi ilk olarak 1988 yılında bildirilmiştir (Denning ve ark., 1988; Imazio ve Trincherro, 2009).

Gerek Veteriner hekimliğinde gerekse insan hekimliğinde akut perikardite genellikle bir dereceye kadar miyokardit te eşlik eder. Klinik pratikte hem perikardit hem de miyokardit bir arada bulunur, çünkü viral enfeksiyonlar (şap vb.) ilaçlar (monensin vb.), radyasyonlar, Retiküloperitonitis travmatika gibi ortak etiyolojik ajanları bu vakaları paylaşırlar. Miyokarditis ile birlikte oluşan perikardit, miyokard tutulumunun değişkenliğini yansıtan çeşitlilik gösterir (Imazio ve Trinchero, 2009). Birçok vaka subklinik olabilir ve diğer hastalarda kalp semptomları ve belirtileri hafif seyredebilir. Semptomatik hastalar plöretik göğüs ağrısı, nefes darlığı ve çarpıntıdan şikâyetçi olabilir. Kardiyak enzim yükselmeleri, miyokard lezyonunu yansıtır. Fakat sebebi ortaya koyamaz. Birçok klinisyen, akut perikardit hastalarında miyokardit teşhisi için kardiyak enzimlerde bir yükseliş olduğunu belirtmektedir (Cooper, 2009; Imazio ve Trinchero, 2009).

Ratlarda Kreatin kinaz (CK) ve laktat dehidrojenazın (LDH) erken dönem miyokard hasarının tespiti için çok belirleyici olmadıkları gösterilmiştir. Kardiyak troponinler-I (cTnI) ve -T (cTnT)'in ise yüksek duyarlılığa sahip oldukları ve miyokard hücre hasarının spesifik belirteçleri oldukları gösterilmiştir (Adams III ve ark., 1993; Apple ve ark., 1997; Bertinchant ve ark., 1996; Burlina ve ark., 1994). Son araştırmalar insana özgü cTnI ve cTnT'nin çeşitli hayvan türlerin ait cTn ile çapraz reaktivitesini ortaya koymuştur (Katus ve ark., 1991; Katus ve ark., 1992; O'Brien ve ark., 1997a,b). Sıçanlarda isoprenalin uygulaması ile kardiyak hasar indüklendikten sonra CK, CK-MB ve LDH düzeylerinde oluşan değişimleri gösteren çeşitli deneysel raporlar vardır (Bartsch ve ark., 1974; Bhargava ve ark., 1990; Preus ve ark., 1988). Ayrıca farklı dozlarda EG zehirlenmesine maruz bırakılan ratlarda cTnI ve cTnT'de gözlenen artışlar olup olmadığı ve bu kardiyak parametrelerin EG toksikasyon modelinde sıçan kalplerinde histolojik bulgular arasındaki ilişki hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu tez projesinde orijinal olarak insan serumları için geliştirilen cTnT analizleri kullanılsa da cTnI testleri için ratlara özgü üretilmiş ticari ELISA kitinden faydalanılmıştır. Serumlarda analiz edilen cTnI ve cTnT tespitlerinin, insanlar ve deney hayvan türlerinin kullanılan monoklonal antikorları (mAb) arasındaki gösterilebilir çapraz reaksiyondan dolayı sıçanlarda da bu analizlerin yapılmasının mümkün olduğu bilinmektedir (Katus ve ark., 1999; O'Brien ve ark., 1997a,b; Bleuel ve ark., 1995; Vorderwinkler ve ark., 1996; Yamahara ve ark., 1993).

Bertinchan ve ark.'nın (2000) çalışması isoprenalin verdikleri sıçanların serumunda cTnI ve cTnT'nin belirlenmesinin erken kardiyak hasarın teşhisi için etkin parametreler olduğunu göstermektedir. Yükselen cTnI ve cTnT seviyesinin izoprenalin verilen sıçanlarda 6 ila 48 saat sonra miyofibriller dejenerasyonunun derecesi arasında iyi bir ilişki olduğunu da göstermiştir. Buna karşılık, CK ve LDH düzeyleri erken kardiyak hasarı öngörebilecek kadar duyarlı değildi.

CK ve LDH, izoprenalinle tedavi edilen hayvanlarda kontrollerle karşılaştırıldığında değişmedi. Bu veriler, izoprenalin ile tedavi edilen sıçanlarda 6 saat sonra cTnT seviyelerinin yükseldiğini tespit eden Bleuel ve ark.'nın, (1995) bulguları ile tutarlıdır. Bu çalışmanın bulgularında, periferik kandaki cTnT seviyelerinin hayvanların serumunda > 2 ng/ml'nin artması durumunda incelenen tüm hayvanlarda belirgin bir miyokard hücre hasarı tespit edildi. Bertinchan ve ark. (2000) çalışmasında ise belirgin miyokard hücre hasarı durumunda en düşük cTnT tepe değeri 3 ng / ml idi.

Bu tez çalışmasının CK (MB) bulguları değerlendirildiğinde ratlarda daha önce isoprenalin ile yapılan çalışmalardan farklı olduğu görülmüştür. Kontrole göre isoprenalin verilenlerde herhangi bir değişim gözlenmemiş olmasına rağmen EG verilen ratlarda heriki grupta yüksek mortalite oranları oluşmuş aynı zamanda kardiyak enzim aktivitesi de önemli oranda yükselmiştir. Bu durum kalp kası stresini hatta kardiyak hasarın bir göstergesi olduğu düşünülmüştür.

Bu tez çalışmasının CK (MB) bulguları grup I'de 72 ve 96. saatlerde zehirlenme öncesi elde edilen bulgulara göre artış gösterdi. Bu grupta 96. saat CK (MB) düzeyi diğer saatlerden istatistiki açıdan anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Grup II de ise 72. saat düzeyi aynı grubun 0. ve 96. saat verilerinden istatistiki açıdan anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Kontrol grubunun verilerinde ise saatler arasında istatistiksel herhangi bir değişim gözlenmedi. Gruplar arası yapılan incelemede Grup I'in 96. saat düzeyi ile grup II de 72. saat CK (MB) aktivitesi diğer tüm gruplardan elde edilen düzeylere göre istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek bulundu.

Elde edilen cTn-T sonuçları kontrol grubuna göre EG verilen çalışma gruplarında önemli değişiklikler görüldü. Aynı zamanda heriki çalışma grubunda benzer değişimler olmakla birlikte cTn-T düzeyleri CK (MB) den farklı bir seyir izlemiştir. Elde edilen 0. saat verilerine göre 72 ve 96. saat verileri tedrici olarak istatistiksel açıdan önemli

oranda artışlar göstermiş 96. saatte en yüksek düzeylerine ulaşmıştır. Kontrol grubunda bütün saatlerde alınan verilerde değişiklik izlenmemiştir.

Bir çalışmadaki yapılan deneylere göre, cTnI ve cTnT seviyelerinin erken dönemde yükseldiği tesbit edilmiş ve benzer şekilde, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında izoprenalin enjeksiyonundan 24 saat sonra cTnT'nin daha yüksek anlamlılık düzeyinde daha uzun süre arttığı gösterilmiştir (Bertsch ve ark., 1997). Bu sonuçlar, cTnI ile karşılaştırıldığında cTnT'nin daha uzun bir süre ile kan serumunda yüksek düzeylerde kaldığını bildiren insanlardaki cTnT ve cTnI kinetiğine uyumlu bulunmuştur (Mair, 1996; Mair ve ark., 1996).

Bu projeden elde edilen cTnI ve cTnT düzeyleri EG verildikten sonra 72 ve 96. saatlerde değerlendirilmiştir. Buna göre cTnI düzeyleri gerek çalışma gruplarında gerekse kontrol grubunda zamana bağlı bir değişim göstermemiştir. Elde edilen 72 ve 96. saatlerdeki değerlerin EG verilmeden önceki elde edilen değerlerden farklı olmadığı görülmüştür. Aynı biçimde tüm grupların herbir saatindeki elde edilen değerlerinde gruplar arasında farklı olmadığı görülmüştür. Bu değerlerin İzoprenalin verilerek oluşturulan myokard hasarının değerlendirildiği çalışmalardan tamamen farklı olduğu değerlendirilmiştir. Çalışma sonrası 24 ve 48. saatlerde kan örneklerinin alımı planlanmış olmakla birlikte bu saatlerde ratların klinik açıdan oldukça yoğun belirtiler göstermeleri ve dehidrasyon durumları nedeniyle yeterli düzeyde kan örnekleri alınamamıştır. Bu nedenle aynı saatlerde analizler yapılamamıştır. Bu saatlerde yükselen veya değişmeyen cTnI düzeyleri için yorum yapılamamıştır. Bu tez projesinden elde edilen ortalama cTnT bulguları, Bertsch ve ark.'nın (1997) 24 saat sonraki cTnT sonuçlarının kontrol grubuna göre cTnI dan daha yüksek olduğu belirledikleri çalışmanın bulgularıyla uyumlu olduğu söylenebilir, çünkü çalışma gruplarında cTnI sonuçlarının değişmediği 72 ve 96. saatlerdeki düzeylerin hem 0. saate göre hem de kontrol grubunun aynı saatlerdeki düzeylerinden anlamlı oranda yüksek olması nedeniyle aynı yargıya varılmıştır. Bertsch ve ark. (1997), belirgin miyokard hücre hasarını saptamak için cTnI için eşik değerinin en az 4.1 ng/ml olması gerektiği sonucuna varmıştır. Bertinchan ve ark. (2000) ise izoprenalin ile tedavi edilen sıçanlarda histolojik miyokard hasarını saptamak için en az 0.35 ng/ml cTnI artışının gerekli olduğunu bulmuştur (belirgin miyokard hasarı durumunda 0.67 ng / ml).

Çalışmalar arasındaki eşik değerlerindeki bu tutarsızlıklar, bütün çalışmalarda gözlemlenen değerlerin doğrudan karşılaştırılmaması gerekliliğini ortaya koymaktadır zira, bütün çalışmalarda farklı cTnI immünoassay kullanılmış ve farklı eşik değerleri elde edilmiştir. Bu immünoassaylerde, farklı epitopları tanımlayan mAb'ler her iki tahlilde de farklıdır. Bu, farklı cTnI immünolojik testler arasında standardizasyonun olmadığını göstermektedir. Ayrıca, bu çalışmada, kullandığımız son nesil cTnT testi ile cTnT konsantrasyonunun cTnI'den belirgin şekilde daha yüksek değerlere yükseltildiğini gözlemledik. İnsan ventriküler miyokarddaki cTnT içeriğinin cTnI içeriğinden iki kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Dean, 1998). Ancak, üçüncü nesil cTnT testinin test edilmesi halinde cTnT konsantrasyonunun daha düşük değerler gösterebileceği de bildirilmektedir. Bununla birlikte, cTnI ve cTnT analizleri arasındaki sonuçların mutlak konsantrasyonundaki önemli farklılıkların karşılaştırılmaması tavsiye edilmektedir. Gerçekten de, antikorların çeşitli cTn-I ve cTn-T formlarına çapraz reaktivitesinde kütle standardizasyonunun olmaması ve heterojeniteden dolayı mutlak cTn-I ve cTn-T sonuçlarında farklılıklar vardır. Bu nedenle analiz metod ve farklılıkları ile moleküler anlamdaki farklılıklar her iki parametrenin ayrı değerlendirilmesini ortaya koymaktadır (Wu ve ark., 1998) .

Bu projeden elde edilen veriler cTnI ve cTnT belli zaman dilimleri arasındaki bu farklılıklara rağmen, miyokard hasarlarının CK (MB) salınımına yol açmasa dahi cTnI ve cTnT düzeyindeki yükselmelerin hassas olduğunu belirten klinik raporlardan elde edilen bulgularla iyi bir uyum içinde olduğu gösterilmiştir (Adams III ve ark., 1993; Burlina ve ark., 1994; Gerhardt ve ark., 1991; Hamm ve ark., 1992; Wu ve ark., 1995). CK (MB)'deki bu farklılığın muhtemelen mikroinfarktüsün saptanmasındaki CK duyarlılığının ve özgünlüğünün azalmasından kaynaklanmaktadır. cTnI normalde kan dolaşımında yok denecek kadar az olduğu ve miyokardiyumda da ağırlık bazında CK (MB) 'den daha fazla olduğu için, cTnI çok düşük düzeylerdeki kardiyak nekrozun saptanması için çok daha uygundur (Antman ve ark., 1996). Nitekim, Bleuel'in çalışmasında da olduğu gibi, kullanılan ratlarda kontrollerle karşılaştırıldığında EG ile muamele edilmiş sıçanlarda CK'da anlamlı bir artış bulunmamıştır (Bleuel ve ark., 1995).

Normal CK-MB ile birlikte veya yalnız başına kardiyak troponinlerin yükselmesi, hafif derecede veya en düşük dereceli miyokardiyal hasarı yansıtabilir. Bir vakada CK-MB

düzeyi normal aralıkta kalırken, serum cTnI düzeyi orta derecede yükselmiş olduğu ve bunun da subklinik miyokardit şüphesi oluşturduğu düşünüldü. Bununla birlikte, bazı ilaçları ve kimyasal zehirlerin perikardit ve miyokardit neden olabildiği bilinmektedir. Etilen glikolün ve/veya metabolitlerinin perikarditin ve miyokarditin etkeni olma ihtimalinin hala küçük bir ihtimal olduğu öne sürülmüştür. (Imazio ve Trinchero, 2009). Ancak hastada seyri kardiyopulmoner yetmezlik, şiddetli metabolik asidoz ve oligurik böbrek yetmezliği, ardından üremik perikardit ve kalp tamponadı şekillenmiştir. Buna rağmen yapılan tedavi ile iyi bir iyileşme sağlanmıştır. Bu olağandışı üremik perikardit ve EG zehirlenmesinden sonra gelişen kardiyak tamponad vakası, sürekli kateter drenajı ve yoğun hemodiyaliz ile ekokardiyografi kılavuzluğunda perikardiyosentez ile tedavi edildi. EG zehirlenmesinden kaynaklanan akut böbrek yetmezliği vakalarında akut perikardit ve kalp tamponadı ihtimali göz ardı edilmemelidir (Friedman ve ark., 1962; Parry ve Wallach, 1974).

Plöretik göğüs ağrısı ve dispne çoğunlukla masif perikardiyal efüzyonlu perikardit ile ilişkilendirildi. Bu hastalarda anlamlı ST segment değişiklikleri gözlenmemiş ve III, aVF'de T dalgası inversiyonları klinik olarak önemsiz görülmüştür. Ekokardiyografi, kalbin duvar hareketlerini ve sol ventrikül sistolik fonksiyonlarını değerlendirmek için yapıldı. EG zehirlenmelerinde elektrokardiyogram değişiklikleri de sık görülür ve bu değişiklikler belirli derecelerde miyokard tutulumunu yansıtır. Sık rastlanan bulgular spesifik olmayan T dalgası değişimleridir (Cooper, 2009). EKG perikardiyal hastalığın ve bozulmuş sol ventrikül sistolik fonksiyonunun invaziv olmayan tespitini sağlar. Bir vaka raporunda 28 yaşında EG toksikasyonuna maruz kalan bir insanda EKG anormallikleri oluştuğu rapor edilmiştir (Davis ve ark., 1997). Bu çalışmada ortaya çıkan en belirgin EKG anormalliği ST segmenti değişiklikleridir. EKG yi değerlendiren bu sınırlı sayıdaki yayınlarla çalışmadan elde edilen EKG anormalliklerinin farklı olduğu söylenebilir. Çünkü bu çalışmada önceki çalışmalardan daha belirgin biçimde ST segmentinde değişimler şekillenmiştir. ST segment değişiklikleri deneysel EG zehirlenmesinde kardiyak etkiyi gösteren en önemli bulgudur.

EG toksikasyonunun gerek insanlarda gerekse hayvanlarda kalp üzerindeki etkileri göz ardı edilebilmektedir. Çünkü nörolojik belirtiler, böbrek fonksiyon bozuklukları daha ön planda hayatı tehdit etmekte ve bunlara yönelik acil önlemler alınmaktadır. Bununla birlikte standart acil uygulamalar içerisinde EKG kayıtları da alınmaktadır. Daha önceki

vaka raporlarında elde edilen EKG anormallikleri değerlendirilmiştir (Denning ve ark., 1988). Bu çalışmalarda geniş kompleksler ve içsel atriyal aktivitesi olmayan düz T dalgalarının olduğu açıklanmıştır (Scully ve ark., 1979). Aynı zamanda vaka çalışmalarında kalpteki patolojik değişiklikler de kısmen ortaya konulmuştur. Beş farklı hastada kardiyovasküler sistemin incelendiği, çalışmadan elde edilen bulgular genellikle miyokardda peteşiel kanama ve dejeneratif myokard değişiklikleri ile kardiyak dilatasyon idi (Haegmann ve Chiffelle, 1948). Bu vakalarda yangısal bir hücre infiltratı saptanmamıştır. Başka bir vaka raporunda ise miyokardite ait bulgular endomiyokardiyal biyopsi ile desteklendi, ancak değişiklikler spesifik değildi ve viral miyokardit ile çok çeşitli ilaçlar ve kimyasallarla bildirilen toksik miyokarditlerden farklı olduğu gösterilememiştir (Aretz, 1986).

EG'ün glikoaldehit metabolitlerinin derin hücresel etkileri söz konusudur. Oksidatif fosforilasyonun, glukoz metabolizmasının ve protein sentezinin yanı sıra DNA onarımı mekanizmalarının inhibe edilmesi ve bu hastada görülen miyokard fonksiyonunun geri kazanılması şaşırtıcıdır. İzotopik olarak belgelenen hafif bozulmanın kalıntı derecesi izotopik olarak 'uzun' kalıcı yapısal hasarı yansıtabilir kalp yetmezliğinin başlangıçtaki şiddeti, kalsiyum oksalat birikimine bağlı asidoz ve hipokalsemi dahil olmak üzere miyokard kontraktilesi üzerindeki lokal biyokimyasal etkilerden kaynaklanmaktadır (Imazio, 2007; Denning ve ark., 1988).

Ayrıca diğer parametrelerden, CK-MB izoenzimi, mutlak kalbe özgü bir belirteç değildir (Adams ve ark., 1993) ve iskelet kası yaralanması var ise hayvanlarda etkisiz olabilir (O'Brien ve ark., 1997b). Ayrıca, plazmadaki CK-MB'nin etkinliği, bir türden diğerine dağılımda farklılık gösterir. Bu çalışmada elde edilen CK-MB aktiviteleri 1. Grupta 0 saate göre 72 ve 96. saatlerdeki belirgin artış göstermiştir. İkinci grupta ise 72. saatteki artış, 96. saatte hafif azalma ile seyretmiştir. Heriki çalışma grubunun 72 ve 96. saat değerlerinin kontrol grubunun aynı saatlerdeki düzeylerinden farklı olduğu da gözlenmiştir. Çalışma gruplarındaki bu değişimler kalp kasında bir hasar oluştuğunun delilleri olarak değerlendirilmiştir. Öte yandan, insanlarda miyokard enfarktüsünü teşhis etmek için kullanılan CK-MB aktiviteleri için daha duyarlı ve spesifik immünoassay testlerinin iskelet kası hasarı olan olgularda güvenilemez sonuçlar verebileceği görülmektedir. Ayrıca, CK-MB için türlere özgü immünolojik testler, laboratuvar hayvanlarında kullanım için ticari olarak temin edilememektedir ve CK-MB

immünoreaktivitesi türler arasında değişkenlikler göstermektedir. Bu çalışmada ise hayvanlarda kalp hasarı teşhisi için güvenilir bir kan testi bulunmadığının bilincinde olarak, biyokimyasal tanı standartlarını kabul ettik. Fakat elde edilen sonuçların CK-MB biyolojik kinetiğine uygun olduğu belirlenmiştir (Bertinchant ve ark., 2000).

EG zehirlenmesinin Kardiopulmoner etkilerinin 2. dönemde ortaya çıktığı ve bu etkilerin; taşikardi, hipertansiyon, EKG anormallikleri (hiperakut T dalgası), solunum anormallikleri, şiddetli asidozis, pulmoner ödem, kardiyojenik, nonkardiyojenik, konjestiv kalp yetmezliği (nörojenik, asidozis, hipokalsemi, Ca-oksalat) olduğu belirtilmiştir (Davis ve ark., 1997). Yukarıdaki bu rapor dikkate alınacak olursa EG zehirlenmelerinde ciddi anlamda kardiyovasküler etkiler gözlenebildiği belirtilmektedir. Bu çalışmadan elde edilen bulguların da insanlardaki bu vaka raporunun destekler nitelikte olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, bizim verilerimiz, CK-MB ve cTnT'nin, sıçanlarda EG kaynaklı taşikardi sonrası miyokard hasarı teşhisinde, geleneksel cTnI, CK ve LDH biyobelirteçlerine göre önemli bir artışı ve değişimleri temsil eden biyobelirteçler olduğunu göstermektedir. Ortalama cTnT düzeyleri ve CK-MB aktivitelerindeki yükselmeler ile histolojik bulgular arasındaki ilişkinin analizi, bilhassa gelişen cTnT düzeyi ile miyofibriller dejenerasyonunun derecesi arasında iyi bir uyumluluk olduğunu ortaya koydu. Bununla birlikte, analizlerin çeşitli troponin-I ve -T formlarına verdiği tepkiler nedeniyle belirli cTnI ve cTnT analizleriyle elde edilen mutlak değerlerde farklılıklar vardı.

Bu tez projesinin sonuçlarını sınırlandıran bazı durumlar da söz konusudur. Zira çalışmada iki farklı (bir yüksek bir düşük doz) doz EG verilen sıçanlar değerlendirilmiştir. Sadece yüksek dozda kalp kası hasarlarının histopatolojik olarak değerlendirilmesi ile bu dozda kesin bir miyokard hasarının oluştuğunu göstermeyebilir. Bu nedenle Grup I'de verilen yüksek dozun üzerinde dozlarda da kalp kası hasarının değerlendirilmesi gerekmekte idi. Ancak hayvan refahı ve etik kurul ilkeleri gereği daha fazla sayıda ve yüksek doz verilen rat kullanılmamıştır. Bu nedenle vakaların tümünde belirgin kardiyak histopatolojiye rastlanmamıştır. Diğer bir sınırlayıcı faktör ise cTnI düzeylerinin önemli bir artış göstermemesine rağmen cTnT düzeylerinin heriki çalışma grubunda yükselmesidir. Her iki parametrenin de paralel ve uyumlu seyretmeyebileceği yukarıda açıklanmakla birlikte, cTnT düzeylerindeki artışın böbrek yetmezliklerinde de oluşabileceği, bu parametrenin böbrek atılımlarının aksaması nedeniyle kan serumunda

düzeylerinin yükselebileceği de bir diğer bilimsel gerçektir. Bu durum renal klirensin etkilenmesi nedeniyle böbrek hasarlarında cTnT düzeylerinin yükseldiğini belirten çalışmalarla ortaya konulmuştur (Freda ve ark., 2002; Diris ve ark., 2004). Bu çalışmada kalp dışında herhangi bir organın histopatolojisi yapılmamıştır. Fakat böbrek fonksiyon bozukluğunun delilleri biyokimyasal olarak ortaya konulmuştur. İdrarda kristalürinin görülmesi de mutlaka böbrek hasarı olduğunu ifade etmeyecektir. Bu nedenle CK (MB) deki artışla beraber cTnT deki artışların paralel seyretmesi nedeniyle daha çok cTnT artışının kardiyak kas hasarına bağlı olduğu tarafımızdan speküle edilmiştir.

cTnI analizleri için standardizasyon, miyokard hücre hasarının cTnI öngörüsünün karşılaştırmalı uygulanabilirliğini geliştirecektir. Dolayısıyla, cTnT ve CK-MB bu nedenle hayvanlarda kardiyotoksik ve/veya kardiyojeneratif etkilerin uzun süreli tespiti için kolayca ölçülebilir hedef parametreler olarak kullanılabilir. Bununla birlikte, tür içi ve türler arası farklılıklar da ilerideki çalışmalarda dikkate alınmalıdır.

Çalışmanın en önemli sonucu; biyokimyasal parametrelerden CK-MB, cTnT ile EKG ve histopatolojik bulgular ışığında 6000 mg/kg dozda EG verilen ratlarda önemli düzeyde, 3000 mg/kg dozda EG verilen ratlarda ise düşük düzeylerde bir myokard hasarının oluşacağı, ölümlerde miyokard hasarının katkısının olabileceği, yapılacak EG toksikasyonu hasta monitörizasyonunda ve gerçekleştirilecek tedavinin düzenlenmesinde kardiyak hasarın da dikkatle değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Genel değerlendirmede bu parametrelerdeki elde edilen değişimler ve histopatoloji bulguları EG zehirlenmesinde orta dereceli bir myokard hasarının oluştuğunu ortaya koymaktadır.

6.KAYNAKLAR

- Adams III JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, Delmez JA, Apple FS, Ledenson JH, Jaffe AS. Cardiac Troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101–106
- Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990 *Circulation* 1993;88:750–63
- Ağırçöl M. İzole Sıçan Kalbinde Kardiyoplejik Solüsyona Atorvastatin İlavesinin Miyokard Koruması Üzerine Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2009:11-13
- Akın H. Sığırlarda Şap Hastalığına Bağlı Kalp Kası Hasarının Teşhisinde Serum Kardiyak Troponin-I Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2010: 14-18
- Alkan Z, Şeker Y, Kurtdere A, Sarıca A, Bumin A. Köpeklerde Deneysel Etilen Glikol Zehirlenmesinde Ultrasonografik Tanı ve Bazı Kan Parametrelerinde Değişiklikler, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 42. 1995: 473-478
- Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M. Cardiac specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996;335:1342–1349
- Apple FS, Falahati A, Paulsen PR, Miller EA, Sharkey SW. Improved detection of minor ischemic myocardial injury with measurement of serum cardiac troponin I. *Clin Chem* 1997;43:2047–2051
- Aretz HT. Diagnosis of myocarditis by endomyocardial biopsy. *Med Clin N Am* 1986, 70: 1215-1226
- Aşırdizer M, Gürpınar T, Yavuz M.S. Toksikolojik, Klinik ve Adli Tıp Yönleriyle Etilen Glikol Zehirlenmesi, *Türkiye Klin. Derg.* 2010; 7(2): 79-90
- Aytuğ N. Köpek ve Kedilerin İç Hastalıkları (2. Baskı),Medipres, Malatya,2012: 682-685

- Bartsch VW, Roesch E, Hebold G, Dietz E. Ein beitrage zur Differenzierung zwischen Echter und Scheinbarer b-rezeptoren-blockade am Herzen. *Arzneim-Forsch (Drug Res)* 1974;24:303–8
- Başbuğan Y, Sağlıklı Ruminantlarda Serum Troponin Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, 2008:13-22
- Bayraktar B, Kuzu ve Oğlaklardaki Miyokardiyal Hasarın Belirlenmesinde Kardiyak Troponinlerin Etkinliğinin Araştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın 2014:9-21
- Bertinchant JP, Robert E, Polge A, Marty-Double C, Fabbro-Peray P, Poirey S, Aya G, Juan JM, Ledermann B, Coussaye JE, Dauzat M. Comparison of the diagnostic value of cardiac troponin I and T determinations for detecting early myocardial damage and the relationship with histological findings after isoprenaline-induced cardiac injury in rats. *Clinica Chimica Acta* 298,2000: 13–28
- Bertinchant JP, Larue C, Pernel I, Ledermann B, Fabbro-Peray P, Beck L, Calzolari C, Trinquier S, Nigond J, Pau B. Release kinetics of serum cardiac troponin I in ischemic myocardial injury. *Clin Biochem* 1996;29:587–594
- Bertsch T, Bleuel H, Aufenanger J, Rebel W. Comparison of cardiac troponin T and cardiac troponin I concentrations in peripheral blood during orciprenaline induced tachycardia in rats. *Exp Toxicol Pathol* 1997;49:467–468
- Bhargava AS, Preus M, Khater AR, Gunzel P. Effect of Iloprost on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzymes after isoprenaline-induced cardiac damage in rats. *Arzneim-Forsch (Drug Res)* 1990;40:248–252
- Bilal T. Kedi Köpek İç Hastalıkları, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul,2013:523-524
- Bischoff K. Toxicologic Diseases, In: Murphy M.J. (eds), *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV*. Toronto: WB Saunders Co, 2009:130-135
- Bleuel H, Deschl U, Bertsch T, Bolz G, Rebel W. Diagnostic efficiency of troponin T measurements in rats with experimental myocardial damage. *Exp Toxicol Pathol* 1995;47:121–127
- Boermans H.J, Ruegg P.L, Leach M. Ethylene glycol toxicosis in a Pygmy goat. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1988; 193: 694–696

- Brent J, McMartin K, Phillips S, Burkhart K.K, Donovan J.W, Wells M, Kulig K. Fomepizole for the treatment of ethylene glycol poisoning. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 832–838
- Bruckner J.V, Anand S.S, Warren D.A. Toxic Agents In: Klaassen C.D. (eds), Casarett&Doull's Toxicology(8th), Mc Graw Hill press, USA 2013:879,1074-1081
- Burgess J, Drasdo D.N. Solubilities of calcium salts of dicarboxylic acids in methanol-water mixtures; transfer chemical potentials of dicarboxylate anions. *Polyhedron*, 1993; 12(24): 2905–2911
- Burlina A, Zaninotto M, Secchiero S, Rubin D, Accorci F. Troponin T as a marker of ischemic myocardial injury. *Clin Biochem* 1994;27:113–121
- Carpenter C.P, and Smyth H.F, Chemical burns of the rabbit cornea. *Am J Ophthalmol* 29, 1946:1363–1372
- Cavender FL, Glycols, In: Bingham E, Cohn B.(eds), Patty's Toxicology(6th ed), Volume 4, Wiley press, Canada, 2012:597-602
- Chocron S, Alwan K, Toubin G, Kantelip B, Clement F, Kantelip J.P, Etievent J.P. Effects of myocardial ischemia on the release of cardiac troponin I in isolated rat hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:508–513
- Choi H.J, Lee, Y.W, Wang J.H, Jung I.J, Yeon S.C, Lee H.J, Lee H.C. Radiographic diagnosis of 'rubber jaw syndrome' secondary to chronic renal failure due to ethylene glycol intoxication in a dog. *J Vet Clin*, 2007; 24:260-263
- Chung P.K, Tusio P. Cerebral computed tomography in a stage 4 ethylene glycol intoxication. *Conn Med*, 1989; 53:513–514
- Civelek T, Birdane M.B, Elitok B, Köpeklerde Deneysel Oluşturulan Etilen Glikol Nefrozisinde Renal Ultrasonografik Bulgular, *Vet Bil Derg* 2006; 22:1-2,21-26
- Clark C.R, Marshall T.C, Merickel B.S, Sanchez A, Brownstein, Hobbs C.H. Toxicological assessment of heat transfer fluids proposed for use in solar energy applications. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979; 51: 529–535
- Connally HE, Thrall MA Hamar DW. Safety and efficacy of high-dose fomepizole compared with ethanol as therapy for ethylene glycol intoxication in cats. *J Vet Emerg Crit Care* 2010; 20: 191–206

- Connally HE, Thrall MA, Forney SD, Grauer GF, Hamar D. Safety and efficacy of 4-methylpyrazole as treatment for suspected or confirmed ethylene glycol intoxication in dogs: 107 cases (1983–1995). *J Am Vet Med Assoc* 209;1996:1880–1883
- Cooper LT Jr: Myocarditis. *N Engl J Med* 2009; 360: 1526-38
- Cooper, LT, Myocarditis. *New England Journal of Medicine*, 2009; 360(15):1526–1538
- Cope R, Poppenga R.H. Household and Industrial Toxicants, In: Gwaltney-Brant S (eds), *Small Animal Toxicology Essentials*, Wiley-Blackwell press, West Sussex, 2011: 260-263
- Corley RA, Meek ME, Carney EW. Mode of Action: Oxalate Crystal-Induced Renal Tubule Degeneration and Glycolic Acid-Induced Dysmorphogenesis-Renal and Developmental Effects of Ethylene Glycol. *Critical Reviews in Toxicology*, 2005; 35(8-9):691–702
- Cox RD, Phillips WJ. Ethylene glycol toxicity. *Mil Med*, 169(8),2004:660–663
- Cruzan G, Corley RA, Hard GC, Mertens JJWM, Mcmartin KE, Snellings WM, Gingell R, Deyo JA. Subchronic toxicity of ethylene glycol in Wistar and F344 rats related to metabolism and clearance of metabolites. *Toxicol. Sci.* 2004;81: 502–511
- Cruzan G, Corley RA, Sert GC, Mertens JJWM, Mcmartin KE, Snellings WM, Gingell R, Deyo JA. Subchronic Toxicity of Ethylene Glycol in Wistar and F-344 Rats Related to Metabolism and Clearance of Metabolites. *Toxicological Sciences*, 2004; 81(2): 502–511
- Çelebi F, Güneş V, Uzun M. Doğan A. Deneysel Akut Etilen Glikol Toksikasyonu Oluşturulan Köpeklerde Elektrokardiyogram Bulguları ve Plazma Na, K,Ca ve Cl Düzeyleri, *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 1999,5(2):171-178
- Çelebi Ö.Ö, Diker E, Aydoğdu S, Kardiyak Troponinlerin Klinik Önemi. *Türk Kardiyol Dern. Arş*, 2008; 36(4):269-277
- Çetinkaya R, Odabaş A.R, Selçuk Y, Dursun H. Antifriz İçen Bir Hastada Etilen Glikol Zehirlenmesine Bağlı Akut Renal Yetmezlik, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*,2001;10(2):86-87
- Davis DP, Bramwell KJ, Hamilton RS, Williams SR. Ethylene glycol poisoning: case report of a record-high level and a review. *J Emerg Med* 1997; 15:653–667

- Davis, DP, Bramwell, KJ, Hamilton RS, Williams SR. Ethylene glycol poisoning: Case report of a record-high level and a review. *The Journal of Emergency Medicine*, 1997; 15(5):653–667
- Dean KJ. Biochemistry and molecular biology of troponins I and T. In: Wu AHB, editor, *Cardiac markers*, Totowa, NJ. Humana Press, 1998: 193–204
- Demirel İ, Avcı L, Atalan G, Urfalıoğlu A, Toprak GÇ. Antifriz İçen Bir Hastada Etilenglikol Zehirlenmesi: Olgu Sunumu, *Fırat Tıp Dergisi*. 2012;17(3):182-184
- Denning DW, Berend A, Chia Y, Morgan SH. Myocarditis complicating ethylene glycol poisoning in the absence of neurological features. *Postgraduate Medical Journal* 1988; 64:867-870
- DePass LR, Garman RH, Woodside MD, Giddens W.E, Maronpot R.R, Weil C.S. Chronic toxicity and oncogenicity studies of ethylene glycol in rats and mice. *Fundam Appl Toxicol*. 1986;7:547–565
- Deveci E, Ratlarda Trans-9 18:1 Oktadekenoik Asit İzomerinin Sistemik İnflamasyon Gelişimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 2009:14
- Deveci V. Tavşanlarda Medetomidin-Ketamin ve Profol-Fentanil ile Oluşturulan Anestezinin Bazı Hemodinamik Parametreler ile Kardiyak Troponin I ve Serum C-Reaktif Protein Konsantrasyonları Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın 2015:35-41
- Dial SM, Thrall MA, Hamar DW, 4-Methylpyrazole as treatment for naturally acquired ethylene glycol intoxication in dogs, *J Am Vet Med Assoc* 1989; 195(1):73-76
- Dial SM, Thrall MA, Hamar DW. Comparison of ethanol and 4-methylpyrazole as therapies for ethylene glycol intoxication in the cat. *Am J Vet Res* 1994b; 55: 1771–1782
- Dial SM, Thrall MA, Hamar DW. Efficacy of 4-methylpyrazole for treatment of ethylene glycol intoxication in dogs. *Am J Vet Res* 1994a; 55: 1762–1770
- Diris JHC, Hackeng CM, Kooman JP, Pinto YM, Hermens MP, Van Dieijen-Visser MP. Impaired renal clearance explains elevated troponin T fragments in hemodialysis patients. *Circulation* 2004;109: 23-25

- Doty RL, Dziewit JA, Marshall DA, Antifreeze ingestion by dogs and rats: influence of stimulus concentration, *Can Vet J*. 2006; (47):363–365
- Doyuk A, Kardiyak Kökenli Düşünülen Olgularda İskemi ve Miyokard İnfarktüsü İle Postmortem Byokimyasal Markırlar Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara 2013:36-47
- Dökmeci İ. Toksikoloji, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul,2001:282-286
- Er C, Parvoviral Enteritli Köpeklerde Kalp Biyomarkırları ve Pıhtılaşma Profilleri Üzerine Araştırma, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 2013:17-22
- Freda BJ, Tang WH, Van Lente F, Peacock WF, Francis GS. Cardiac troponins in renal insufficiency: review and clinical implications. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40: 2065–2071
- Friedman EA, Greenberg JB, Merrill JP, Dammin GJ. Consequences of ethylene glycol poisoning. *The American Journal of Medicine*, 1962; 32(6): 891–902
- Gaunt IF, Hardy J, Gangolli SD, Butterworth KR, Loyd AG.Short-term toxicity of monoethylene glycol in the rat. BIBRA International, Carshalton, Surrey, UK. Research Report 4:1974
- Geiling, EMK, Cannon, PR. Pathologic effects of elixir of sulfanilamide (diethylene glycol) poisoning; a clinical and experimental correlation: final report. *JAMA*. 1938;111:919
- Gerhardt W, Katus H.A, Ravkilde J, Hamm C, Jørgensen PJ, Peheim E, Ljungdahl L, Löfdahl P. S-Troponin T in suspected ischemic myocardial injury compared with mass and catalytic concentrations of S-creatine kinase isoenzyme MB. *Clin Chem* 1991;37:1405–11
- Godolphin W, Meagher EP,Sanders HD, Frohlich J. Unusual Calcium Oxalate Crystals in Ethylene Glycol Poisoning. *Clin Toxicol*. 1980; 16(4): 479-486
- Gordon HL, Hunter JM. Ethylene glycol poisoning. *Anaesthesia*, 1982; 137: 332–338
- Grave TW, Boag AK. Feline Toxicological Emergencies: When to Suspect and what to do. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2010; 12(11): 849–860
- Güneş V, Köpeklerde Ethylene glycol ile oluşturulan Akut Toksikasyonların Değişik Alkol Türevleri ile Tedavi Denemeleri, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars,1999:126

- Haegmann PO, Chiffelle TR. Ethylene glycol poisoning. J Lab Clin Med 1948, 33: 573-584
- Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W, Jørgensen P. The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. N Engl J Med 1992;327:146–50
- Hennigar GR, Gross P. Drug and chemical Injury- Environmental pathology, In: Pathology (7th ed), Volume 1, Anderson W.A.D, Kissane J.M(edit), C.V.Mosby Company, ABD, 1977:280-281
- Hess R, Bartels MJ, Pottenger LH. Ethylene glycol: An estimate of tolerable levels of exposure based on a review of animal and human data. Archives of Toxicology vol. 2004;78(12): 671–680
- Hewlett TP, Jacobsen D, Collins TD, Mcmartin KE. Ethylene glycol and glycolate kinetics in rats and dogs. Veterinary and Human Toxicology, 1989; 31(2):11-120
- Hornfeld and Murphy, American Association of Poison Control Centers report on poisonings of animals. USA 1998: 212(3):358-61
- Imazio M, Trincherio R. Myopericarditis: etiology, management, and prognosis. Int J Cardiol 2008; 127: 17-26
- Imazio M, Trincherio R. Triage and management of acute pericarditis. Int J Cardiol, 118, 2007: 286-94
- İçen H, Çelik ÖY, Şimşek A. Kedi ve Köpeklerde Kardiyovasküler Hastalıkların Tanısında Natriüretik Peptidler'in Önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2009; 20(2):85-89
- Jobard E, Harry P, Turcant A, Roy PM, Allain P. 4-Methylpyrazole and Hemodialysis in Ethylene Glycol Poisoning. J Toxicol Clin Toxicol 1996; 34: 373–377
- Jobard E, Harry P, Turcant A, Roy PM, Allain P. 4-Methylpyrazole and Hemodialysis in Ethylene Glycol Poisoning. J Toxicol Clin Toxicol, 1996;34:373–377
- Judea-Pusta CT, Muşu G, Paşcalău AV. The importance of the histopathological examination in lethal acute intoxication with ethylene glycol. Case report. Rom J Morphol Embryol, 2018; 59(3):965–969
- Kahraman AA. İzole Edilmiş Sıçan Kalbinde Miyokardiyal İskemi- Reperfüzyon Hasarına Karşı Ozon Kullanımının Kardiyoprotektif Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniv Sağlık Bil Enst, Çanakkale 2018:8-10

- Karlsonstiber C, Persson H: Ethylene-glycol poisoning: Experiences from an epidemic in Sweden. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1992; 30: 565–574
- Katus HA, Looser S, Hallermayer K, Pemppis A, Scheffold T, Borgya A, Essig U, Geuss U. Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem* 1992;38:386–393
- Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, Scheffold T, Diederich KW, Vinar G, Noe A, Matern G, Kueblerinnere W. Diagnosis efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation* 1991;83:902–912
- Kersting EJ, Nielsen SW. Ethylene glycol poisoning in small animals. *J. Am Vet Med Assoc.* 146,1965:113-118
- Khan SR. Animal models of kidney stone formation: an analysis. *World J. Urol.* 1997; 15:236-243
- Kim KJ, Park JG, Ryu HJ. A Case of Uremic Pericarditis and Cardiac Tamponade That Developed after Ethylene Glycol Poisoning: A Case Report, *Korean J Crit Care Med.* 2010; 25(3):176-181
- Köse S.İ, Maden M, Biyomarkerlar ve Klinik Kullanımları, *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 2013;(1):1-8
- Lee JA. Chemical Toxicoses, In: Ettinger S.J, Feldman E.C, Cote E. (eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*(8th ed), Elsevier press, Canada,2017:1667-1668
- Leth PM, Gregersen M. Ethylene glycol poisoning. *Forensic Sci Int.* 2005; 155:179–184
- Liao LL, Richardson KE. The metabolism of oxalate precursors in isolated perfused rat livers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1972; 153(2): 438–448
- Litovitz TL, Klein-Schwartz W, Dyer KS, Shannon M, Lee S. Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am J Emerg Med* 1998;16:443-97
- Loskutoff NM, Simmons HA, Goulding M, Thompson G, Jongh TD, Simmons LG. Species and individual variations in cryoprotectant toxicities and freezing resistance of epididymal sperm from African antelope. *Anim Reprod Sci* 1996;42:527-535
- Mair J, Genser N, Morandell D, Maier J, Mair P, Lechleitner P, Calzolari C, Catherine L, Ambach E, Dienstl F, Pau B, Puschendorf B. Cardiac troponin I in the diagnosis of myocardial injury and infarction. *Clin Chim Acta* 1996;245:19–38

- Mair J. Cardiac troponin I and troponin T: are enzymes still relevant markers? *Clin Chim Acta* 1997;257:99–115
- Marshall TC, Cheng YS. Inhalation Toxicology Research Institute Annual Report. LMF, 1980; 84:493
- Melnick RL. Toxicities of Ethylene Glycol and Ethylene Glycol Monoethyl Ether in Fischer 344/N Rats and B6C3F1 Mice. *Environmental Health Perspectives*. 1984;57:147-155
- Meuten D. Laboratory Evaluation of Renal Function, In: Thrall MA, Weiser G, Allison R.W, Campbell T.W.(eds), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*(2nd ed). Wiley-Blackwell, USA, 2012:359-360
- Morgan BW, Ford MD, Follmer R. Ethylene glycol ingestion resulting in brainstem and midbrain dysfunction. *Clin Toxicol*. 2000; 38(4):445–51
- Morris HJ, Arthur A. Nelson, Calvery HO. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1942; 74(3):266-273
- Mueller DH. Epidemiologic considerations of ethylene glycol intoxication in small animals. *Vet Hum Toxicology* 1982; 24(1): 21-4
- Nagano K, Nakayama E, Koyano M, Oobayashi H, Adaci H, Yamada T. (Testicular atrophy of mice induced by ethylene glycol mono alkyl ethers.) *Sangyo Igaku*. 1979;21:29-35
- Nakipoğlu D. Canine Visceral Leishmaniasis'te P Dalga Dispersiyonu ve Kardiyak Troponin I Konsantrasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniv Sağlık Bil Enst, Aydın 2016:25-27
- Nițescu VG, Ulmeanu AI, Ulmeanu CE. Toxic crystalluria – prevalence study in children poisoning. *Rev Rom Pediatr*, 2013; 62(1):83–91
- O'Brien PJ, Dameron GW, Beck ML, Kang YJ, Erickson BK, Di Battista THI, Miller KE, Jackson KN, Scott M. Cardiac troponin T is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim Sci* 1997;47:486–495
- O'Brien PJ, Landt Y, Ladenson JH. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin Chem* 1997;43:2333–2338

- Özcan F. Gebelik Sırasında Uzun Dönem Etil Alkol, Metil Alkol ve Etilen Glikol'e Maruz Kalmanın Yenidoğan Yavrular Üzerine Toksik Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniv Sağlık Bil Enst, Edirne. 2008:11-12
- Parry MF, Wallach R. Ethylene glycol poisoning. *American J Med*, 1974; 57: 143–150
- Plumlee KH. Congenital, Hereditary, Immunologic and Toxic Disorders, In: *Large Animal Internal Medicine*(4nd ed), Galey F.D. (eds), Mosby Elsevier press, USA, 2009:1716
- Popa AM, Goană AM, Fernoagă C. Clinical-Diagnosis Coordinates in Ethylene Glycol Intoxication in a Cat. Case Study. *Bilimsel Eserler. Seri C. Veteriner Tıbbı*. 2018;64 (1):91-94
- Pottenger LH, Carney EW, Bartels MJ. Dose-Dependent Nonlinear Pharmacokinetics of Ethylene Glycol Metabolites in Pregnant (GD 10) and Nonpregnant Sprague-Dawley Rats following Oral Administration of Ethylene Glycol. *Toxicol Sci*, 2001; 62(1):10–19
- Preus M, Bhargava AS, Khater AER, Gunzel P. Diagnostic value of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzyme determinations for monitoring early cardiac damage in rats. *Toxicol Lett* 1988;42:225–233
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Diseases associated with inorganic and farm chemical, In: *Veterinary Medicine*(10th ed),Elsevier press, USA, 2006:1848
- Rakun RA, Jones RA, Jenkins LJ, Siegel J. Animal Inhalation Studies on Ammonia, Ethylene Glycol, Formaldehyde, Dimethylamine, and Ethanol. *Toxicol Appl Pharmacol* 1970;16:646-655
- Richardson KE. The effect of partial hepatectomy on the toxicity of ethylene glycol, glycolic acid, glyoxylic acid and glycine. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1973; 24(4): 530–538
- Rowland J. Incidence of ethylene glycol intoxication in dogs and cats seen at Colorado State University Veterinary Teaching Hospital. *Vet Hum Toxicol* 1987;29(1):41-44
- Rusenov A, Simeonova G, Simenov R, Dimitrov R, Stamatova-Yovcheva K, Nikolov Y, Uzunova K. A Case of Acute Renal Failure Following Ethylene Glycol Intoxication in a Dog. *İÜ Vet Derg* 2014;40(1): 1- 7

- Sarıtaş A, Sarıtaş PU, Kurnaz MM. Antifiriz (Etilen Glikol) Zehirlenmesine Bağlı Akut Böbrek Yetmezliği. *Türkiye Klin Derg.* 2015; 23(4):366-369
- Schladt L, Ivens I, Karbe E, Rühl-Fehlert C, Bomhard E. Subacute oral toxicity of tetraethylene-glycol and ethylene-glycol administered to Wistar rats. *Exp Toxicol Pathol.* 1998; 50:257–265
- Schmidt RE., Reavill DR., Phalen DN. Pathology of pet and aviary birds(2nd ed), Wiley-Blackwell press, USA, 2015:141
- Scully RE, Galdabini JJ, McNelly BU. Case records of the Massachusetts General Hospital (Case 38). *N Engl Med J* 1979;301: 650-657
- Sienkiewicz J, Kwieciński H. Acute encephalopathy in ethylene glycol poisoning. *Poland* 1992; 45(13-14):536-539
- Soysal Z, Eke SM, Çağdır AS. Adli otopsi, cilt 1, İTÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 1999:374
- Sönmez N. Van Kedilerinde Troponin Seviyelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van 2008:15-24
- Sperling RA, Pellegrino T, Li JK, Chang WH, Parak WJ. Electrophoretic Separation of Nanoparticles with a Discrete Number of Functional Groups. *Adv. Funct. Mater.* 2006;16: 943–948
- Sugen B, Güneş V. Beyaz Kas Hastalıklı Kuzularda Kalp Kası Hasarının Teşhisinde Kardiyak Troponin Kit Analizleri ve Serum Enzim Aktivitelerinin Önemi, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2008; 17(3):144-149
- Taşkın E, Ellajik Asitin Miyokart İnfarktüsü Oluşturulmuş Ratlarda Sialik Asit Düzeyleri ve Lipit Profili Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van 2017:3-6
- Thrall MA, Hamar DW. Gases, Solvents and Other Industrial Toxicants In: Gupta RC.(edit), *Veterinary Toxicology* (2nd). Elsevier press, USA, 2012:738-742
- Thrall MA, Grauer GF, Dial SM. Etilen Glikol Toksikitesi In: Osweiler GD.(eds), *The 5 Minute Veterinary Consult Canine and Feline*, Nobel Tıp Kitabevi Ltd. Şti. İstanbul 2008:624-625
- Thrall M.A, Grauer G.F, Mero, K.N. Clinicopathologic findings in dogs and cats with ethylene glycol intoxication. *JAVMA.* 1984;184:37–41

- Topçu B. Tavşanlarda ACTH ve Dekzametazon'un oluşturduğu kardiyovasküler Değişikliklere Karşı L-Karnitin'in Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Kafkas Üniv Sağlık Bil Enst, Kars 2009:13-15
- Tümer KÇ. Tavşanlarda Deneysel Akut Anemi ve Akut İnflamasyonun Kalp Kası Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ. 2018:15-19
- Uluslan M, Varol K, Ekinci G, Bayram LÇ, Keleş İ, Onmaz AC, Güneş V. Bir koyun sürüsünde imidokarb uygulamasına bağlı kalp kası hasarının biyobelirteçler ışığında değerlendirilmesi:5 Vaka, Kocatepe Vet Derg, 2016;9(2):135-139
- Ünsüren H, Kurtde A, Şeker Y, Fidancı U.R, Özlem MB, Şahal M. Köpeklerde deneysel ethylene glycol (Antifriz) zehirlenmesi ve sağıltımı. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1987, 34: 154-162
- Ünsüren H, Kurtde A, Şeker Y. Fidancı UR, Özlem MB, Şahal M. Köpeklerde Deneysel Ethylene Glycol(Antifriz) Zehirlenmesi ve Sağıltımı, AÜ Vet Fak Derg, 1987; 34(1):154-162
- Verrilli MR, Deyling CL, Pippenger CE, Lente FV, Vidt DG, Sivak ED. Fatal ethylene glycol intoxication. Cleve Clin J Med. 1987;54:289- 295
- Vorderwinkler KP, Mair J, Puschendorf B, Hempel A, Schluter KD, Piper HM. Cardiac troponin I increases in parallel to cardiac troponin T, creatine kinase and lactate dehydrogenase in effluents from isolated perfused rat hearts after hypoxia-reoxygenation-induced myocardial injury. Clin Chim Acta 1996;251:113–117
- Walder AD, Tyler CKG. Ethylene glycol antifreeze poisoning: three case reports and a review of treatment. Anaesthesia, 1994;49: 964–7
- Web_1. Gregory F. Grauer's web site, <https://www.msdsmanual.com/toxicology/ethylene-glycol-toxicity/overview-of-ethylene-glycol-toxicity>. Erişim tarihi:08.05.2019
- Wills JH, Coulston F, Harris ES, McChesney EW, Russell JC, Serrone DM. Inhalation of aerosolized ethylene glycol by man. Clin Toxicol. 1974;7:463–476
- Woolf AD, Wynshaw-Boris A, Rinaldo P, Levy HL. Intentional infantile ethylene glycol poisoning presenting as an inherited metabolic disorder. The Journal of Pediatrics, 1992;120(3):421-424

- Wu AHB, Abbas SA, Green S, Pearsoll BS, Dhakam S, Azar R, Onoroski M, Senaie A, Mckay RG, Waters D. Prognostic value of cardiac troponin T in unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1995;76:970–972
- Wu AHB, Feng YJ, Moore R, Apple FS, Mcpherson PH, Buechler KF, Bodor Geza. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. *Clin Chem*. 1998;44:1198–208
- Yamahara Y, Asayama J, Ohta B, Matsumoto T, Miyazaki H, Tatsumi T, Kobara M, Inoue M, Inoue D, Nakagawa M. Release kinetics and correlation with hemodynamic dysfunction of cardiac troponin T in coronary effluent from isolated rat hearts during reperfusion. *Basic Res Cardiol* 1993;88:307–313.
- Zeiss J, Velasco ME, McCann KM, Coombs RJ. Cerebral CT of lethal ethylene glycol intoxication with pathologic correlation. *American Journal of Neuroradiology*, 1989;10: 440–442.



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 13.04.2016

Toplantı Sayısı: 04

Karar No:16/075

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 13.04.2016 tarihinde
Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Çağrı ŞAKALAR	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	KATILMADI
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	KATILMADI
Nükhet KÜTÜK	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	KATILMADI
Serpil SARIÖZKAN	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Yard.Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Hamiyet ÜNAL	Yard.Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Osman İBİŞ	Yard.Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	DeneySEL Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	
Serap ALTUNTAŞ EROĞLU	Avukat	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	KATILMADI
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Derneği Başkanı	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları A.D.'dan Veteriner Hekim Vehbi GÜNEŞ tarafından sunulan "DeneySEL Etilen Glikol Zehirlenmesi Oluşturulan Ratlarda Kalp Kası Hasarının Araştırılması." başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 13.04.2016

Etik kurul Başkan Vekili : Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA

İmza :

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Burak DOĞAN
Uyruğu: Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri: 23.04.1989, Sivas
Medeni Durumu: Evli
Tel: +90 542 786 36 26
Fax:
email: burak.dogan@tarim.gov.tr
Yazışma Adresi: Ulaş İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü Ulaş/Sivas

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2012
Lise	Halil Rıfat Paşa Lisesi	2006

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2016- Halen	Ulaş İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim
2012-2016	Köse İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim

YABANCI DİL

İngilizce