

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİNİRSEL FORMLU GENÇLİK HASTALIKLI KÖPEKLERDE
SİNİR SİSTEMİNDE OLUŞAN HASARIN BELİRLENMESİNDE
SEÇİLMİŞ BEYİN HASAR BİYOBELİRTEÇLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Muhammed Mustafa KAPAR

DOKTORA TEZİ

VETERİNERLİK İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Danışman
Prof. Dr. Mahmut OK**

KONYA-2024

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİNİRSEL FORMLU GENÇLİK HASTALIKLI KÖPEKLERDE SİNİR
SİSTEMİNDE OLUŞAN HASARIN BELİRLENMESİNDE
SEÇİLMİŞ BEYİN HASAR BİYOBELİRTEÇLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Muhammed Mustafa KAPAR
DOKTORA TEZİ**

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Danışman
Prof. Dr. Mahmut OK**

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 21212049 numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2024

ÖNSÖZ

Son yıllarda ülkemizde pandemi ile birlikte kedi ve köpek popülasyonunda ciddi artış gözlenmiştir. Köpeklerin çok fazla sayıda öldürücü viral hastalıkları mevcuttur. Bunlardan biri de köpek gençlik hastalığıdır. Hastalık 1 yaşın altındaki aşısız genç köpeklerde yaygın görülmekle birlikte nadiren 10 yaşın üzerindeki köpeklerde de görülmektedir. Hastalığın etkeni *Paramyxoviridae* ailesinin *Morbillivirus* cinsine ait *Canine distemper virüs* (CDV)'dur. *Canine distemper virüsü*'nun çok fazla serotipi vardır. Yüksek virulansa ve nörotropik etkiye sahip olan Synder Hill veya R 252 serotipi merkezi sinir sistemini etkileyerek önemli hasarlara yol açmaktadır. Yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olan virüs, köpeklerde solunum, gastrointestinal, dermatolojik, oftalmik veya nörolojik bozukluklara neden olur. Hastalığın mortalite oranı ırktan ırka değişmekle birlikte, bu oranın %30-80 arasında olması ve iyileşen sinir sistemi problemlili köpeklerde kalıcı sinirsel hasarın oluşması nedeniyle veteriner hekimlik açısından kayda değer bir hastalık olarak görülür.

Virus merkezi sinir sistemini etkilediğinde nonpurulent ensefalomiyelite (beyin ve omurilikte yangı) neden olarak önemli hasar oluşturur. Beşerî hekimlikte özellikle hipoksemik beyin hasarının belirlenmesinde diagnostik ve prognostik beyin hasar biyobelirteçleri son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır Yaygın olarak kullanılan bu biyobelirteçler; Glial fibriler asit protein (GFAP), nöron spesifik enolaz (NSE), ubiquitin karboksi terminal hidrosilaz 1(UCHL1), Aktivitin A (ACTA), Adrenomodilin (ADM) ve Kreatin-kinaz- BB (CK-BB)'dir. Veteriner alanda merkezi sinir sisteminde oluşan hasarlar ya biyopsi ya da ölen hayvanların beyin ve omuriliğinden alınan dokuların incelenmesi ile belirlenmektedir. Sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde sinir sisteminde oluşan hasarın antemortem muayane yöntemi ile serum ve beyin omurilik sıvısında beyine özgü hasar biyobelirteçlerinin belirlenmesinin bundan sonraki bu alandaki çalışmalara referans oluşturacağını düşünüyoruz.

Sunulan araştırmanın birincil amacı, sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde sinir sisteminde oluşan hasarın ve boyutunun belirlenmesinde seçilmiş beyin hasar biyobelirteçlerinin kullanılabilirliğinin değerlendirilmesidir. İkincil amacı ise beyin hasar biyobelirteçlerinden hangisinin hastalığın teşhisinde güvenilir diyagnostik öneme sahip olduğunu tespit etmektir.

Sunulan bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (SÜBAP) tarafından 21212049 proje numarası ile desteklenmiştir.

Sadece hekimlikte değil hayata dair de çok şey öğreten, yardımlarını ve bilgilerini benden esirgemeyen, meslek hayatım boyunca kullanacağım çok değerli bilgi ve tecrübelerini aktaran, beraber çalışmaktan ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, araştırmanın planlanmasından yazım sürecine kadar kıymetli görüşlerini, tecrübelerini ve katkılarını aktaran, çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Mahmut OK'a, doktora eğitimim boyunca her konuda kapılarını çalabildiğim yardımını ve bilgisini esirgemeyen çok değerli Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Kürşat TURGUT'a, Prof. Dr. Abdullah BAŞOĞLU'na, Prof. Dr. Mutlu SEVİNÇ'e, Prof. Dr. Mehmet MADEN'e ve Prof. Dr. Hasan GÜZELBEKTEŞ'e, tezimde her türlü yardımlarını, bilgilerini, kıymetli fikirlerini ve yol göstericiliğini benden esirgemeyen ve her zaman her konuda yanımda olan Doç. Dr. Amir NASERİ'ye, Doç. Dr. Merve İDER'e ve yine mesleki anlamda hem teorikte hemde uygulamada kendisinden altın değerinde bilgiler edindiğim ve hekimliğime kıymetli bilgiler ile yön veren Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Erdem GÜLERSOY'a, klinikte mesai arkadaşım olan ve tez çalışmamda bana yardımcı olan, her konuda kapılarını çalabildiğim tezimde emekleri olan Vet. Hek. Dr. Murat Kaan DURGUT'a, MKÜ Veteriner Fakültesi Dr. Öğretim Üyesi Alper ERTÜRK'e, tezimin her aşamasında yine emekleri olan ve sadece tez değil mesleğimle alakalı herşeyi danışabildiğim kıymetli bilgileriyle ve abim yerine koyduğum Dr. Erman KORAL'a, Yüksek Lisans öğrencisi Vet. Hek. Burcu Büşra EROL'a, değerli doktora ve yüksek lisans öğrencilerine, İstatistiksel analizi ve ELİSA sonuçlarını yorumlamada emeği geçen Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Enver YAZAR'a ve Prof. Dr. Kamil ÜNEY'e, PCR analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Oğuzhan AVCI'ya, Doktora öğrencisi Vet. Hek. Rüveyde GÜLBAHÇE'ye ve Doktora öğrencisi Sercan PALANCI'ya, ELİSA ölçümlerinin yapılmasını sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen MKÜ Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Orhan ÇORUM'a, hayatım boyunca her konuda bana yol gösteren en büyük motivasyon kaynağım olan ve arkamda her zaman duran, beni yetiştirip bugünlere getiren kıymetli babam, annem ve kardeşime maddi ve manevi verdikleri emeklerden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER ve KISALTMALAR vi

ÖZET..... viii

SUMMARY ix

1. GİRİŞ..... 1

1.2. Etiyopatogenez..... 1

1.3. Klinik Semptomlar 4

1.4. Tanı 5

1.4.1. Klinik Bulgular 5

1.4.2. Hematolojik Bulgular..... 5

1.4.3. İmmünolojik Testler..... 6

1.4.4. Virolojik Tanı..... 7

1.5. Tedavi..... 7

1.6. Korunma..... 8

1.7. Beyin Hasarına Özgü Biyobelirteçler 9

1.7.1. Adrenomedullin (ADM)..... 10

1.7.2. Aktivin A (ACTA)..... 10

1.7.3. Nöron Spesifik Enolaz (NSE) 11

1.7.4. Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP)..... 11

1.7.5. Kreatin Kinaz-BB (CK-BB)..... 12

1.7.6. İmmünglobulin G (İgG) 12

1.7.7. İmmünglobulin M (İgM)..... 13

2. GEREÇ VE YÖNTEM 15

2.1. Hayvan materyali 15

2.2. Gereç 15

2.3. Hasta ve Sağlıklı Grubun Oluşturulması..... 15

2.3.1. Sinirsel Formlu Gençlik Hastalıklı Köpeklerin Seçimi 15

2.3.2. Sağlıklı Köpeklerin Seçimi 16

2.3.3. Kan Örneklerinin Toplanması..... 16

2.3.4. Beyin Omurilik Sıvı Alınımı..... 16

2.3.5. PCR Örneklerin Toplanması 17

2.4. Yöntem..... 17

2.4.1. Kan Gazı Ölçümü 17

2.4.2. Hemogram Ölçümü..... 17

2.4.3. Canine Distemper Virus (CDV) Ag Hızlı Testi Uygulaması 18

2.4.4. Biyobelirteç Ölçümü.....	19
2.4.5. Tedavi Protokolü.....	20
2.4.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analiz Prosedürü.....	20
2.4.7. İstatistiksel Analiz.....	21
3. BULGULAR.....	23
3.1. Klinik Bulgular.....	23
3.2. Kan Gazları Bulguları	26
3.3. Hemogram Bulguları	27
3.4. Biyobelirteç Bulguları	27
3.5. PCR ve CDV Ag ELISA Bulguları	29
4. TARTIŞMA.....	32
4.1. Klinik Bulgular.....	32
4.2. Biyobelirteç Bulguları	32
4.3. Hematolojik Bulgular	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
6. KAYNAKLAR	43
7. EKLER.....	52
EK-A: Etik Kurul Kararı	52
EK-B: Turnitin Raporu.....	53
8. ÖZGEÇMİŞ.....	57

SİMGELER ve KISALTMALAR

%:	Yüzde
<:	Küçüktür
>:	Büyüktür
≤:	Küçük eşittir
≥:	Büyük eşittir
°C:	Santigrat derece
µg/mL:	Mikrogram/mililitre
ACTA:	Aktivin A
ADM:	Adrenomedulin
BE:	Baz açığı
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
CDV:	Canine distemper virus
CK-BB:	Kreatin-kinaz B
Cl:	Klor
CSF:	Serebrospinal sıvısı
DNA:	Deoksiribonükleik asit
FA:	Direkt immunfloresan tekniği
FITC:	Floresan antikor boyası
GFAP:	Glial fibriler asidik protein
GRA:	Granulosit
Hb:	Hemoglobin
HCO₃:	Bikarbonat
Hct:	Hemotokrit
Ig G:	İmmunglobulin G
Ig M:	İmmunglobulin M
İFAT:	İndirekt immunfloresan tekniği
K:	Potasyum
Kg:	Kilogram
LYM:	Lenfosit
mg:	Miligram
mL:	Mililitre
mmHg:	Milimetre civa

mmol/L:	Milimol/Litre
MON:	Monosit
MSS:	Merkezi sinir sistemi
ng/mL:	Nanogram/mililitre
NSE:	Nöron spesifik enolaz
PBS:	Fosfat tamponlu tuz solusyonu
PCO₂:	Parsiyel karbondioksit basıncı
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
pH:	Potansiyel hidrojen
PLT:	Trombosit
PO₂:	Parsiyel oksijen basıncı
RBC:	Total eritrosit
RNA:	Ribonükleik asit
Rpm:	Dakika başına devir
RT-PCR:	Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
SO₂:	Oksijen satürasyonu
UCHL1:	Ubiquitin karboksi terminal hidrolaz L1
WBC:	Total lökosit

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİNİRSEL FORMLU GENÇLİK HASTALIKLI KÖPEKLERDE SİNİR SİSTEMİNDE OLUŞAN HASARIN BELİRLENMESİNDE SEÇİLMİŞ BEYİN HASAR BİYOBELİRTEÇLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Muhammed Mustafa KAPAR
Veterinerlik İç Hastalıkları Anabilim Dalı
DOKTORA TEZİ / KONYA-2024

Sunulan çalışmanın birincil amacı, sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde sinir sisteminde oluşan hasar ve boyutunun belirlenmesinde seçilmiş beyin hasar biyobelirteçlerinin kullanılabilirliğinin değerlendirilmesidir. İkincil amacı ise beyin hasar biyobelirteçlerinden hangisinin hastalığın teşhisinde güvenilir diagnostik öneme sahip olduğunu tespit etmektir.

Bu araştırmanın materyalini, 3 aylık ile 1 yaş aralığında ve farklı ırktan 36 sinirsel formlu gençlik hastalıklı ve 16 sağlıklı köpek oluşturdu. Hastalığın tanısı, klinik bulgular, canine distemper virus antijen testi ve PCR analizi ile kondu. Tüm köpeklerden bir kez antikoagulanlı ve antikoagulantsız kan örneği alındı. Ayrıca hasta köpeklerden beyin omurilik sıvı (BOS) alındı. K₃-EDTA'li kan örneğinden tam kan sayımı yapıldı. Heparinli kan örneklerinde kan gazı ölçüldü. Serum ve BOS nöron spesifik enolaz (NSE), glial fibriler asitik protein (GFAP), kreatin kinaz-beyin (CK-BB), Adrenomodulin (ADM), Aktivitin A (ACTA), immunoglobulin G (İgG) ve immunoglobulin M (İgM) düzeyleri, köpeğe spesifik ticari ELİSA kiti ile ölçüldü.

Sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde konjunktivit, burun ve gözyaşı akıntısı, temporal, göğüs, sırt ve bacak kaslarında miyoklonus (tik), bazı olgularda burun ucu ve taban yastığında hiperkeratoz (Hard-pad) ve epileptik nöbetler gözlemlendi. Sinirsel formlu gençlik hastalıklı 36 köpeğin uygulanan tedavi ile 5'i iyileşirken, 31'i öldü. Kan gazı parametrelerinde istatistiksel açıdan farklılık gözlenmedi. Sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeğin serum NSE, GFAP, CK-B, İgG ve İgM düzeylerinde önemli artış belirlendi. Beyin omurilik sıvı ADM ve ACT düzeyleri, seruma göre daha yüksekti. Ayrıca, sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerin total lökosit (WBC), lenfosit (LYM) ve monosit (MON) sayısında anlamlı artış tespit edildi.

Sonuç olarak sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerin serum NSE, GFAP, CK-BB, İgM ve İgG konsantrasyonlarında önemli artış belirlendi. Beyin omurilik sıvı NSE, GFAP, CK-B, İgM ve İgG konsantrasyonları ve özellikle ADM ve ACTA seviyesi seruma göre daha yüksekti. Beyin hasarının belirlenmesinde NSE, GFAP ve CK-BB biyobelirteçlerin kullanılabilir ve güvenilir diagnostik değere sahip olduğu ortaya kondu.

Anahtar kelimeler: Köpek, sinirsel form, gençlik hastalığı, beyin hasar biyobelirteçleri

SUMMARY
REPUBLIC OF TURKEY
SELÇUK UNİVERİTY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

**Evaluation of selected brain damage biomarkers in the determination of
nervous system damage in dogs with nervous distemper**

Muhammed Mustafa KAPAR
Department of Veterinary Internal Medicine
PhD THESIS/ KONYA-2024

The primary aim of the presented study is to evaluate the usefulness of selected brain injury biomarkers in determining the extent and severity of damage to the brain in dogs with nervous form of distemper. The secondary aim is to determine which of the brain injury biomarkers have reliable diagnostic significance in the diagnosis of the disease.

The material of this study consisted of 36 dogs with nervous form of distemper and 16 healthy dogs of different breeds between 3 months and 1 year of age. The disease was diagnosed by clinical findings, canine distemper virus antigen test and PCR analyses. Blood samples with and without anticoagulant were taken once from all dogs. Cerebrospinal fluid (CSF) was also collected from sick dogs. Complete blood count was performed from the blood sample with K-EDTA. Blood gas measurement was performed in heparinized blood samples. Serum and CSF neuron specific enolase (NSE), glial fibrillary acidic protein (GFAP), creatine kinase-brain (CK-BB), adrenomodulin (ADM), activitin A (ACTA), immunoglobulin G (IgG) and immunoglobulin M (IgM) concentrations were measured with canine-specific commercial ELISA kit.

Conjunctivitis, nasal and lacrimal discharge, myoclonus in the temporal, chest, back and leg muscles, hyperkeratosis of the nasal tip and base pad (Hard-pad) in some cases and epileptic seizures were observed in dogs with nervous form of distemper. Of the 36 dogs with nervous form of distemper, 5 recovered after treatment, while 31 died. No statistically significant difference was observed in blood gas parameters. There was a significant increase in serum NSE, GFAP, CK-B, IgG and IgM concentrations in dogs with nervous form of distemper. CSF ADM and ACTA A levels were higher than serum levels. In addition, total leukocyte (WBC), lymphocyte (LYM) and monocyte (MON) counts were significantly increased in dogs with nervous form of distemper.

In conclusion, a significant increase in serum NSE, GFAP, CK-BB, IgM and IgM concentrations was determined in dogs with nervous form of distemper. Cerebrospinal fluid NSE, GFAP, CK-BB, IgM and IgM concentrations and especially ADM and ACTA levels were higher than serum. NSE, GFAP and CK-B biomarkers were found to have usable and reliable diagnostic value in determining brain injury.

Key words: Dog, nervous form, distemper, brain damage biomarker

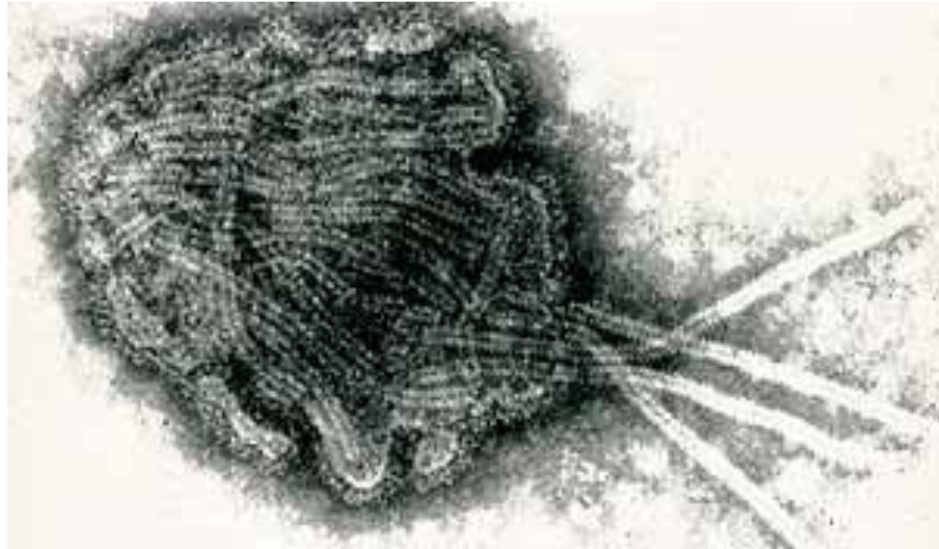
1. GİRİŞ

Canine distemper virus (CDV), lenfotropik, epiteliotropik ve nörotropik özelliğe sahiptir. Çok bulaşıcı özelliğe sahip olan virüs, bir yaştan altındaki köpeklerde şiddetli sistemik enfeksiyona neden olarak ciddi boyutta ölümlere neden olur (Pratakpiriya ve ark 2017, Chiludzinski 2023, McDermott ve ark 2023). *Canine distemper virus*, yabani ve evcil karnivorlarda gençlik hastalığına sebep olurlar. Köpeklerde ve diğer karnivorlarda görülen bu enfeksiyonun, yaklaşık 250 yıl önce ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Rikula 2008, Trogu ve ark 2021). Köpek gençlik hastalığının ilk kez 1746 yılında Güney Amerika'da, 1760 yılında İngiltere ve İspanya'da, 1770 yılında ise Rusya da görüldüğü bildirilmiştir (Blancou 2004). Fransa, Almanya, ABD ve Finlandiya olmak üzere dünyanın değişik bölgelerinde CDV salgınları ortaya çıkmakta ve hastalığı önlemede düzenli aşılama etkili koruyuculuk sağlamaktadır (Beineke 2009). Köpek gençlik hastalığı, evcil ve yabani karnivorlarda gözlenen yüksek morbidite ve mortaliteye sahip viral bir hastalıktır (Fenner ve ark 1987, Vural ve Algıcı 2010, Trogu ve ark 2021). Hasta köpeklerde solunum, gastrointestinal, dermatolojik, oftalmik veya nörolojik bozukluklar gelişebilmektedir (Beineke ve ark 2009). Hastalığın mortalitesi ırktan ırka değişmekle birlikte, bu oranın %30-80 arasında olabileceği ve iyileşen hayvanlarda da kalıcı sinir sistemi sorunları ortaya çıkabildiği bildirilmiştir (Jiang ve ark 2019). *Morbillivirus* zarflı, tek iplikli bir RNA virusudur. Genel olarak CDV solunum, sindirim, idrar, lenfatik, endokrin, kutanöz, iskelet ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere hemen hemen tüm organlarda sistemik enfeksiyon ile sonuçlanan lenfo, nöro ve epiteliotropizm sergiler (Beineke ve ark 2015, Pratakpiriya ve ark 2017). Köpek gençlik hastalığının seyri ve patogenezi; hastalık akut safhadayken yüksek ateş, anormal solunum, lenfopeni ve şiddetli immunsupresyon oluşturma yönüyle insan kızamık virüsü enfeksiyonuna benzemekle birlikte, şiddetli nörolojik bozukluk oluşturmaları ile kızamık virus enfeksiyonundan farklılık arz eder (Ağaoğlu ve Akgül 1998, Uhl ve ark 2019).

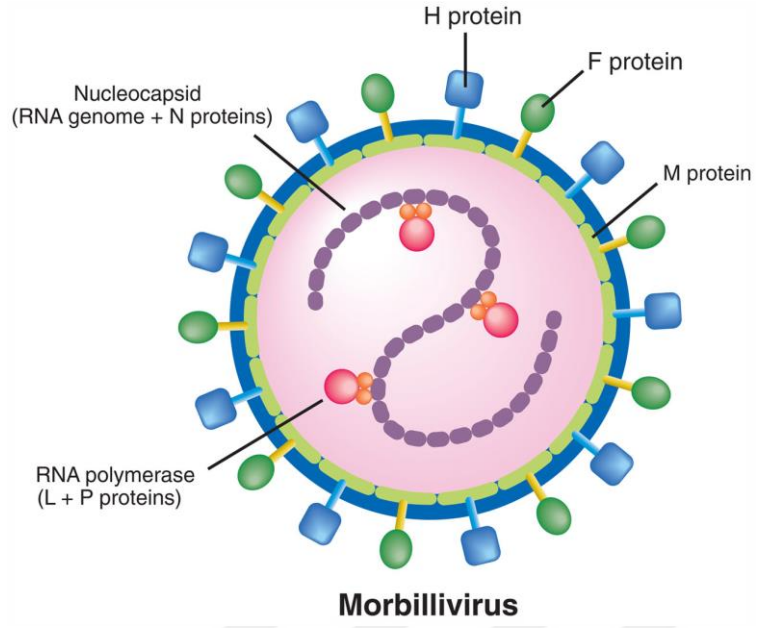
1.2. Etiyopatogenez

Köpek gençlik hastalığına neden olan *Canine Distemper Virüsü*, *Paramyxoviridae* ailesinin *Morbillivirus* cinsinin üyesidir (Appel ve Summers 1999,

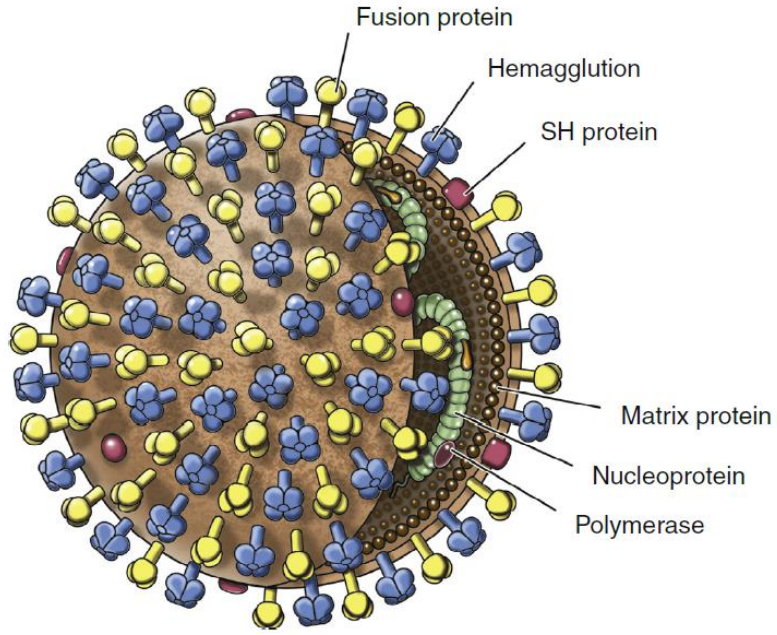
Conceicao ve ark 2019, Rendon-Marin ve ark 2019). Etken zarflı, tek iplikli bir RNA virusudur (Sato ve ark 2012, Esin 2013). *Canine distemper virus*'unun yapısı, dış zarf, virionda en çok bulunan protein olan bir matris proteini (M) ile nükleokapside bağlanan hemagglutinin (H) ve füzyon (F) proteinlerini içermektedir (Sykes 2014). *Morbillivirus* 'un, insanlarda kızamık hastalığı, sığır, koyun ve keçilerde vebaya neden olan viruslar ile yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (Yarım ve Yağcı 2006). Hastalık, enfekte hayvanların nazo-oral sekresyonları ve idrarla saçtıkları virusa doğrudan temas veya aerosol yolla bulaşır ve virusun hedef alanı muköz membran ve lenfoid dokulardır (Kim ve ark 2006, Shabbir ve ark 2011, Tozato ve ark 2016, Alfano ve ark 2022). Hastalık etkenine karşı duyarlılık, hastalığın seyri ve hastalığın virulansı büyük ölçüde CDV etkenin suşuna, konağın immun durumuna bağlı olarak değişmekle birlikte 2-12 aylık yavru köpekler daha duyarlıdır (Ek-Kommonen ve ark 1997, Kim ve ark 2006, Lempp ve ark 2014). CDV'ye karşı en duyarlı yaş aralığı 2-6 aylık dönemdir. En büyük risk faktörü; hayvanların aşısız olmaları veya maternal antikor seviyesinde zamanla meydana gelen azalmadır (Kim ve ark 2006, Kapil ve Yearly 2011). Hastalığa karşı aşılanmış köpeklerde nadiren de olsa gençlik hastalığı görülebilmektedir (Pardo ve ark 2005, Norris ve ark 2006). Tüm köpek türlerinin predispoze olması özelliği nedeniyle hastalık, global öneme sahiptir (Martinez-Gutierrez ve Ruiz-Saenz 2016, Alfano ve ark 2022). Etkenin pek çok serotipi mevcut olmakla birlikte Synder Hill ve R 252 gibi bazı nörotropik serotipler, yüksek mortaliteye sahiptirler (Şen 1998, Ok 2005, Pratakpuriya ve ark 2017).



Şekil 1.1. Elektron mikroskobu ile görüntülenmiş olan Morbillivirus (Sato ve ark 2012).



Şekil 1.2. Tek iplikli yapıya sahip bir RNA virüsü olan morbillivirüsün yapısı (Sato ve ark 2012).



Şekil 1.3. CDV'nun dış yapısının elektron mikroskopik görüntüsü (Sykes 2014).

1.3.Klinik Semptomlar

Virus vücuda girdikten sonra inkübasyon süresi yaklaşık olarak 7 gündür. Sadece nörolojik semptomların görüldüğü vakalarda ise 1 ay ya da daha uzun süreli olabilir. Klinik semptomların şiddeti ve süresi, hayvanın immun sistemine, yaşına, virusun suşuna göre değişkenlik göstermektedir. Hastalık hafif, sistemik (kataral) ve sinirsel form olmak üzere 3 formda seyreder. Hafif formda hafif iştahsızlık, ateş, halsizlik ve depresyon gibi bulgular gelişebilir. Birkaç günde hasta iyileşir ve taşıyıcı konumuna gelir. Hastalığın klinik olarak en yaygın gözlenen formu, sistemik formdur. Bu formda virusun vücuttaki organlarda yapmış olduğu hasara göre klinik bulgular ortaya çıkar (Turgut ve Ok 2001, Ok 2005, Aytuğ 2019, Gülersoy ve ark 2022). Sistemik formda en sık görülen semptomlar; burun ve gözyaşı akıntısı, iştahsızlık, ateş ve durgunluktur. Konjunktivada hiperemi ile birlikte gözlerde purulent akıntı gözlenir (Ok 2005). Virus solunum sistemini etkilediği zaman öksürük, solunum güçlüğü, muko-purulent burun akıntısı ve oskültasyonda yaş harhara sesi duyulabilir (Ağaoğlu ve Akgül 1998, Ok 2005). Gözde meydana gelen keratokonjunktivitis sikka, gözyaşı bezinde meydana gelen viral yıkımlama ile birlikte göz yaşının yetersiz salgılanması ya da aşırı göz yaşı buharlaşması ile karakterize kronik bir sekonder rahatsızlık olarak karşımıza çıkar. Korneal ve konjunktival hasar geliştiğinde ise görme kaybı meydana gelir (De Almeida ve ark 2009). Ayrıca gençlik hastalıklı köpeklerde zaman zaman taban yastıklarında ve burun ucunda hiperkeratoz (hardpad) görülür (Galan ve ark 2014, Tuzcu ve ark 2021). Virusun merkezi sinir sistemini etkilemesi ile köpekte akut veya kronik bir ensefalomiyelitis meydana gelir (Gülersoy ve ark 2020, Gülersoy ve ark 2022). Sinirsel formda kısmi veya tam tetraparezis, serebellar ve vestibular semptomlar, nöbetler ve bazı olgularda demans gelişir (Ok 2005, Galan ve ark 2014, Gülersoy ve ark 2022). Özellikle temporal ve ön bacak kaslarında miyoklonus (tik) ve ağızda sakız çiğneme hareketleri, hastalığının en tipik bulgularıdır. Hastalığı atlatıp iyileşen köpeklerde görme ve işitme bozukluğu kalıcıdır (Amude ve ark 2007, Galan ve ark 2014). Hastalık yavaş ilerleyerek hastalarda inkoordinasyon, çift ya da tek yönlü kafa sallama, başta eğilme, nistagmus, yüz ve çiğneme kaslarında felce neden olur (Ağaoğlu ve Akgül 1998, Ok 2005, Gülersoy ve ark 2020). Ancak zihinsel aktivite halen devam etmektedir. Yaşlı köpeklerde ensefalit ise old-dog ensefalitis olarak bilinir ki bu form çok nadir gözlenir. Çoğunlukla 6 yaşın üzerinde gözlenir. Old-dog ensefalitli köpeklerde görme yetisinde kaybın yanı sıra inkoordinasyon, depresyon,

dönme hareketleri, zihinsel bozukluk ve kafa kaslarında tikler ortaya çıkar, hastalar zamanla artık sahibini tanıyamaz hale gelir (Ağaoğlu ve Akgül 1998, Gülersoy ve ark 2020).

1.4.Tanı

Köpek gençlik hastalığının tanısında ayrıntılı bir anemnez, klinik bulgular, hemogram bulguları, serolojik testler, immunolojik teknikler (immünofloresan, immünokromatografi ve immünohisto-kimya) ve PCR yöntemlerinden yararlanılmaktadır (Ok 2005, Wyllie ve ark 2016).

1.4.1. Klinik Bulgular

Köpek gençlik hastalığının klinik belirtileri multisistemik olmakla birlikte çoğunlukla hastalığın sistemik formunda burun ve gözyaşı akıntısı, iştahsızlık, ateş, durgunluk, kusma, ishal ve zaman zaman görme bozuklukları gibi bulgular gözlenirken (Sherding 1994, Ok 2005, Woma 2008), sinirsel formda kısmi veya tam tetraparezis, serebellar ve vestibular semptomlar, temporal ve ön bacak kaslarında miyoklonus (tik) ve ağızda sakız çiğneme hareketleri ve nöbetler gözlenir (Ok 2005, Galán ve ark 2014, Gülersoy ve ark 2022a).

1.4.2. Hematolojik Bulgular

Hemogram analizleri birçok hastalık durumunda klinisyenlerin ilk başvurduğu laboratuvar analizlerdir. İçerisinde her hayvan türüne ait tanımlamalar bulunan veteriner otoanalizör sistemler günümüzde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Hemogram analizleri klinisyenlere lökosit, eritrosit ve trombosit sayılarının yanında morfolojileri hakkında da bilgiler verir. Gençlik hastalıklı köpeklerde en yaygın hematolojik bulgular anemi ve lenfopeni olarak bildirilmiştir (Tudury ve ark 1997). Bu hastalıkta anemi gelişimini, virusun kemik iliğinde eritroid hipoplazisi (Perret ve ark 2001, Ezeibe ve Udegbumam 2008, Headley ve ark 2009) veya virus tarafından indüklenen proinflamatuvar sitokinleri demirin daha az metabolize edilebilir bir forma dönüştürmesi sonucu demirin retikülosit yapımında kullanılamamasına bağlamışlardır

(Manolov ve ark 2017). Gençlik hastalıklı köpeklerde gözlenen en önemli hematolojik değişim lökosit panelinde gerçekleşmektedir. Hastalığın akut döneminde en dominant değişim lenfosit sayısındaki azalmadır (Tudury ve ark 1997). Konjuktival ve nasal sürüntü örneklerinde epitel hücrelerde inklüzyon cisimcikleri belirlenebilir (Değirmençay 2017, Camargo-Castillo ve ark 2019, Karki ve ark 2022).

1.4.3. İmmünolojik Testler

Hastalığın tanısında immünolojik testlerden faydaniılmaktadır. Bu amaçla direkt immünfloresan tekniği (FA) ve indirekt immünfloresan tekniği (İFA) kullanılmaktadır (Elia ve ark 2015).

Direkt immünfloresan tekniği (FA)

CDV antijeni; tam kan, beyin omurilik sıvısı, konjuktival, nasal, kemik iliği, genital veya solunum yolları epitellerinden hazırlanan sürme preparat örneklerinin, immünfloresan mikroskobu altında incelenmesiyle belirlenebilir (Athanasίου ve ark 2018). Direk floresan testi, hem canlı hayvan dokuları hem de otopsiyi takiben elde edilen dokular üzerinde uygulanabilmektedir (Şen 1998, Athanasίου ve ark 2018). Sistemik safhada CDV antikoruna nazal ve konjuktival epitel hücre örnekleri ve idrar sedimenti örneklerinden hazırlanmış olan preparatlar floresan antikor boyası (FITC) ile boyanıp, mikroskopik muayene ile CDV antikoruna tespit edilir (Şen 1998, Athanasίου ve ark 2018). Öte yandan, enfeksiyonun geç döneminde alınan örneklerin, enfekte hayvanın enfeksiyona karşı antikor üretmesi ve bu antikorların viral antijenleri yok etmesinden dolayı hatalı negatif sonuç verebileceği bildirilmiştir (Athanasίου ve ark 2018).

İndirek immünfloresan antikor tekniği (İFAT)

Gençlik hastalığının tanısı, indirek immünfloresan test ile serumda İg-M ve İg-G antikor tespit edilmesi ile yapılabilir (Ok 2005, Athanasίου ve ark 2018). Bununla birlikte CDV enfeksiyonuna ait spesifik antikorların tespitinde serum nötralizasyon (SNT) ve ELISA gibi farklı laboratuvar testleri de kullanılmaktadır (Şen 1998).

1.4.4. Virolojik Tanı

Gençlik hastalığının belirli dönemlerinde nasal ve oküler sürüntülerden, beyin omurilik sıvısından, idrar sedimentinden, vaginal sürüntü ya da dışkı örneklerinden virüs izolasyonu yapılabilir (Appel ve Summers 1999). CDV enfeksiyonunda virus izolasyonu için en uygun dönemin, enfeksiyonun akut ya da subakut olduğu dönem olduğu bildirilmiştir (Çalışkan 2007, Esin 2013, Sykes 2014, Saltık 2018).

Direk ELİSA testi

Direk ELİSA testi, viral antijenin tespitinde kullanılır. Bu test CDV pozitif olan köpeklerin tam kan ve beyin omurilik sıvısından yapılmaktadır (Woma 2008, Von Messling ve ark 1999).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Köpek gençlik hastalığının tanısında PCR yaygın kullanılmaktadır ve oldukça spesifik ve güvenilir bir yöntemdir (Woma 2008, Mohammed ve ark 2022, Saltık ve Kale 2023). PCR yöntemi hem canlı hem de ölü hayvana ait örneklerde, hayvanın immün yanıtına, hastalığın formuna ve viral antikor dağılımına bağlı olmadan uygulanan bir tekniktir. Tam kan (lökosit), konjuktival, nazal, akciğer, karaciğer, lenf nodülleri, dalaktan, beyin gibi dokulardan ve idrardan RNA tespiti yapılabilmektedir (Esin 2013, Hasırcıoğlu ve Aslım 2021). PCR yöntemi kullanılarak yapılan bir testte sonucun pozitif olması, CDV enfeksiyonunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Woma 2008).

1.5. Tedavi

Gençlik hastalığının tedavisi, çoğunlukla destek tedavi şeklindedir (Ok 2005, Çalışkan 2007). Destek tedavisi; sıvı-elektrolit uygulaması, yangı gidericiler, immunomodülatörler, antibakteriyel ve antikonvülzan ilaçlardan oluşur. Sıvı tedavisi ile kaybedilen sıvı ve elektrolitler yerine konur. Viral etken immun sistemi baskıladığından dolayı vücut sekonder enfeksiyonlara duyarlı hale gelmekte, bu yüzden geniş spektrumlu antibiyotiklerden faydalanılmaktadır (Martella ve ark 2008).

Sekonder enfeksiyonlarda en çok *Bordetella bronchiseptica* tespit edildiğinden, bu bakteriye etkili antibiyotikler tercih edilmelidir (Murphy ve ark 1999). Bu amaçla 3. kuşak sefalosporinlerden seftriakson (25 mg/kg) ile kloramfenikol (50 mg/kg) veya tetrasiklin (7 mg/kg) kombinasyonu uygulanabilir (Ağaoğlu ve Akgül 1998, Tariq ve ark 2013). Tedavinin en önemli noktalarından biri ise nörolojik hasarla birlikte oluşan yangı ve nöral nöbetleri kontrol etme amacıyla analjezikler ve antikonvülzanların kullanılmasıdır (Degene ve Zebene 2019). Destekleyici tedavi amacıyla özellikle C vitamini ile birlikte diğer vitaminler verilmelidir. Vitamin A, gençlik hastalığının tedavisinde önemli rol oynamaktadır, ancak mekanizması hakkında kesin bir bilgi yoktur (Tariq ve ark 2013). Destekleyici tedavide iştahı tekrardan açmak için B kompleks vitaminleri, MSS'deki gelişen doku hasarına karşı A, C ve E vitaminleri verilebilir. Deksametazon'un (0,25- 1 mg/kg) İV veya İM şeklinde verilmesi nörolojik semptomların kontrolünde fayda sağlayacağı bildirilmiştir (Çalışkan 2007). Nörolojik tiklerin önlenmesinde diazepam (2-5mg total doz, günde 3 kez) veya primidone (15-22 mg/kg günde 2 kez) gibi ilaçlar kullanılır.

1.6. Korunma

Köpek gençlik hastalığından etkili korunma yöntemlerinden birisi, aşılama ile elde edilen immunizasyon, diğeri ise hastalığın kontrolüne yönelik geliştirilen stratejidir. Özellikle endemik bölge veya ülkelerde kontrol stratejileri çok önemlidir. Bu ülkelerde ve bölgelerde köpek girişlerinin engellemesi kontrol stratejisinin temel hedefi olmalıdır (Alfona ve ark 2022). Modifiye canlı virus aşılırları ile sağlanan uzun süreli aktif immunizasyon son 40 yılda hastalığı kontrol altında tutmada en etkili yol olarak görülmüştür (Çalışkan 2007). Zayıflatılmış modifiye canlı aşılırlar ve rekombinant aşılırlarla kazandırılmış bağışıklığın son derece etkili sonuçlar verdiği ortaya konmuştur (Murphy ve ark 1999). Buna karşın, canlı aşılırlarla 3 ila 5 yıl gibi uzun bir süre korunmanın sağlandığı bildirilmiştir (Sykes 2014). Modifiye canlı aşılırlar, yavru köpeklerde 6 haftalık iken yapılmaya başlanır. 21 gün arayla 3 kez tekrar edildiğinde hastalığa karşı iyi bir immunizasyon (%95) sağladığı rapor edilmiştir (Murphy ve ark 1999, Sykes 2014). 16 haftalıktan büyük köpeklerde tek bir doz ile de koruma sağlanmış olsa da 21 gün ara ile 2 doz aşının yapılması CDV'den aşı ile korunma da en uygun olanıdır. Aşılırlar her yıl tekrarlanmalıdır (Ağaoğlu ve Akgül 1998, Sykes 2014). Kızamık virusunun attenuue suşları, genç köpeklerde maternal

antikorların varlığında hücrel ve humoral bağışıklığı sağladığı, gençlik hastalığına karşı kullanılabileceği ortaya konmuştur (Ağaoğlu ve Akgül 1998). Hastalığı doğal olarak atlatıp iyileşen köpekler ömürlerinin sonuna kadar bağışıklık kazanmış olur (Sykes 2014). Zayıflatılmış canlı aşılar, immun sistemi bir şekilde baskılanmış ya da 45 günden küçük yavru köpeklere uygulandığında ensefalite neden olabildiği, gelinciklerde ya da bazı vahşi karnivorlarda ciddi şekilde hastalık geliştiği bildirilmiştir (Sykes 2014). Zayıflatılmış canlı aşılardan doğuma yakın uygulandığında yavrularda ensefalit gelişimine neden olabileceği bildirilmiştir (Sykes 2014). Aşı sonrası ensefalit gelişiminin genellikle aşı uygulamasını takiben 3-20 günlük süre sonrasında ortaya çıktığı ve bu durumun Rockborn suşu içeren aşılardan ilişkilendirildiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Sykes 2014). Ataksi gelişen bazı köpeklerde bu semptomun geri dönüşümlü olabildiği fakat, nöbetlerin ilerleyici ve geri dönülemez olabildiği ifade edilmektedir. Zayıflatılmış canlı aşılardan özellikle genç Weimaraner ırkı köpeklerde hipertrofik osteodistrofiye neden olduğu vurgulansa da bu konuyla ilgili yapılan çalışmaların yetersiz olduğu görülmüştür (Sykes 2014).

1.7. Beyin Hasarına Özgü Biyobelirteçler

Biyobelirteçler, organizmada meydana gelen biyolojik olayların, patolojik durumların ve tedaviye cevapların ölçülebilir göstergeleridir. Son yıllarda biyobelirteç araştırmaları ve keşfi konusunda geniş çaplı; genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik analizler yapılmaktadır. Klinik çalışmalarda kullanılan biyobelirteçlerin çoğu protein yapısındadır. Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü Biyobelirteç Çalışma grubu tarafından 1998 yılında normal biyolojik ve patolojik olayların veya tedaviye farmakolojik cevapların objektif olarak ölçülmesi ve değerlendirilmesinde biyobelirteçlerin önemli parametreler olduğu ortaya konmuştur. Biyobelirteçler hastalığın gelişimi ve ilerlemesi veya tedavinin etkinliğini ölçmede önemli katkı sağlayan biyokimyasal parametrelerdir (Biomarker Definitions Working Group 2001, Gülersoy ve ark 2020B, Ok ve ark 2020, Durgut ve Ok 2022).

Son yıllarda beşerî hekimlikte sinir sisteminin hasarının teşhis ve prognozunu belirlemede kullanılabilecek çok sayıda biyobelirteç belirlenmiştir. Bunlar; serum 100 B (S100B), ADM, ACTA, NSE, GFAP, ubiquitin karbomil hidrolaz (UCHL1) ve CK-

BB'dir (Bennet ve ark 2010, Bersani ve ark 2015, Ok ve ark 2022). Beyin biyobelirteçlerinin, bebeklerde beyin hasarının erken tespitine önemli katkı sağladığı ortaya konmuştur (Gazzolo ve ark 2009, Douglas-Escobar ve Weiss 2013). Neonatal asfeksili bebeklerde, hipoksiye ilişkin gelişen beyin hasarında GFAP, S100B, NSE, UCHL1, Aktivin A, ADM ve CK-BB düzeylerinde önemli değişimler belirlenmiştir (Douglas-Escobar ve Weiss 2013). Asfeksili perinatal buzağılarda oluşan hipoksik işemik ensefalopatide UCHL1, S100B, ADM, ACTA, NSE, GFAP ve CK-BB beyin hasar biyobelirteçlerinde önemli değişimler olduğu ortaya konulmuştur (Ok ve ark 2022, Ider ve ark 2023). Bebeklerde ve buzağılarda olduğu gibi büyük ihtimalle köpeklerin merkezi sinir sistemini (beyin ve omurilik) etkileyen hastalıklarda özellikle beyin ve spinal kort dokusunda ciddi boyutta hasar meydana geldiği histopatolojik çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu çalışmada sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde beyin hasarını gösteren biyobelirteçler değerlendirilmiştir.

1.7.1. Adrenomedullin (ADM)

Vazodilatör hipotansif bir peptid olan adrenomodullin, ilk kez insan feokromositoma'sından izole edilmiştir. Organizmada, 52 aminoasit peptitten oluşan ADM preproadrenomodulin şeklinde sentez edilir. Birçok biyolojik etkilere sahip olan ADM'nin temel görevi, siklik adenosin monofosfat üretimini artırmaktır. Perinatal hipoksilerde serebral vasküler düzenlemeyi sağlayan ADM düzeyinin neonatal nörolojik bozukluklarda yükseldiği bildirilmiştir (Di Iorio ve ark 2004).

1.7.2. Aktivin A (ACTA)

Aktivin A proteininin, mezoderm indüksiyonu, nöron hücre differensiyeli, hematopoezis ve üreme fizyolojisinde çok önemli biyolojik etkisi vardır. Aktivin A'nın konsantrasyonu, değişik sebeplere bağlı beyinde oluşan hasarda artmaktadır. Neonatal asfeksi sonucunda, hipoksik işemik ensefalopati gelişen bebeklerde kan, beyin omurilik sıvısı ve idrarda aktivin A konsantrasyonunun önemli oranda arttığı tespit edilmiştir (Florio ve ark 2006). Aktivin A, sadece beyin hasarında değil, aynı zamanda kalp hastalıklarında da artış göstermektedir (Yndestad ve ark 2007). Aktivin A neonatal hipoksik işemik ensefalopatinin erken tanısında oldukça faydalı bir biyobelirteç olduğu ifade edilmektedir (Lv ve ark 2015). Aktivin A, preterm

bebeklerde serebellar hipoksiye bağlı beyinde oluşan hasarı önlemek için yüksek düzeyde salınmaktadır (Mukerji ve ark 2007). Aktivin A, neonatal hipoksik işemik ensefalopatinin teşhisi için %100 spesifite ve sensiviteye sahip olan bir biyobelirteçtir (Florio ve ark 2004).

1.7.3. Nöron Spesifik Enolaz (NSE)

Nöron spesifik enolaz, nöron ve nöroendokrin dokularda bulunan 78 dalton ağırlığında bir izoenzimdir. Kan ve beyin omurilik sıvısı NSE konsantrasyonu, kan-beyin bariyer bozukluğu, felç veya beyin hasarında yükseldiği saptanmıştır (Palmer ve ark 2004). Neonatal asfeksili bebeklerde, NSE düzeyinin önemli oranda artış gösterdiği tespit edilmiştir (Massaro ve ark 2012). Neonatal hipoksik işemik ensefalopatili bebeklerin prognozu ve nöron hasar boyutunu, serum ve beyin omurilik NSE konsantrasyonunun belirlenmesi ile tahmin edilebileceği bildirilmektedir (Çeltik ve ark 2004, Lv ve ark 2015). Liu ve ark (2005) hipoksik işemik ensefalopatili hastalarda, NSE konsantrasyonun oldukça yüksek olması kötü prognoza işaret ettiğini rapor etmişlerdir. Neonatal hipoksik işemik ensefalopatiye bağlı oluşan beyin hasarının teşhis ve prognozunun saptanmasında, nöral görüntüleme tekniği ile NSE düzeyinin pozitif korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur (Roka ve ark 2012).

1.7.4. Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP)

Glial fibriler asidik protein, astroglial hücrelerde bulunan, monomerik filament proteinidir. Bu protein, dolaşım sistemine, beyin hasarı ve astrogliozis durumunda salınır. Bebeklerde, beyin hasarına neden olan hipoksik işemik ensefalopati durumunda, serum GFAP düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Ennen ve ark 2011). Neonatal hipoksik işemik ensefalopatiye bağlı gelişen beyin hasarlarında, GFAP düzeyinin çok önemli artış gösterdiği bildirilmiştir (Florio ve ark 2010). GFAP neonatal hipoksik işemik ensefalopatinin teşhis ve prognozunun değerlendirilmesinde, faydalı bir biyobelirteç olduğu ortaya konmuştur (Ennen ve ark 2011).

1.7.5. Kreatin Kinaz-BB (CK-BB)

Kreatin kinaz-BB, nöron ve astrositlerde bulunan neonatal periyotta beyin hasarının teşhisinde S100B ile birlikte değerlendirilen biyobelirteçtir (Nagdyman ve ark 2001). Kan CK-BB enzim aktivitesi, nörolojik bozukluklarda 12 saat içinde yükselir (Fernandez ve ark 1987). Nörolojik bozukluk gelişen perinatal asfeksili bebeklerde, CK-BB enzim aktivitesinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir (Walsh ve ark 1982). Şiddetli beyin hasarı gelişerek ölen bebeklerde CK-BB enzim aktivitesinin, 1-4 gün süreyle artış gösterdiği tespit edilmiştir (Becker ve ark 1978). Ruth (1989) perinatal asfeksili bebeklerde CK-BB enzim aktivitesinin arttığını bildirmiştir.

1.7.6. İmmünglobulin G (İgG)

Humoral savunmada önemli görev üstlenen immünglobulin G, vücutta asıl hedefinin toksik ve patojen antijenlerin tanınması, nötralizasyon ve ortadan kaldırma işlevini görmektir (Kaneko ve ark 2006). Kedi ve köpeklerde anneden fetüse plasenta yoluyla geçebilen immünglobulinler, tek tırnaklılarda kısmen geçerken, çift tırnaklı hayvanlarda ise plasentadaki yapısal farklılık nedeniyle yavruya geçemediği ve bunun sonucu da yavruların hipo veya agammaglobulinemik olduğu belirlenmiştir (Parija 2012). İgG'ler doğumdan sonra yavruyu enfeksiyonlara karşı vücudun savunma görevini yerine getirmektedirler (Schroeder ve Cavacini 2010, Yılmaz ve Akgül 2014). Hastalık döneminde antijenlere karşı kısa sürede savunma sisteminden İgM ve İgG üretilir. İgM, kısa ömürlü bir immünglobulin olduğu için serumdaki miktarı hızlıca düşerek yerini İgG'ye bıraktığı ve İgG'nin diğer tüm immünglobulin izotipleri arasında en uzun yarılanma ömrüne sahip olduğu, dolaşımdaki yarılanma ömrünün 21-28 gün olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Schroeder ve Cavacini 2010, Parija 2012, Tizard 2017, Abbas ve ark 2022). İgG izotipleri % 4-18 oranıyla karbonhidrattan ve %82-96 oranıyla proteinden oluşurlar. Ağır zincir bölgesiyle farklılık gösterebilmesi durumu farklı farklı fonksiyonlarda görev alabilen 4 farklı alt sınıf olan İgG'leri ortaya çıkarır. Antijenlere karşı vücudun savunmasında birincil immunolojik yanıtta geç dönemde üretilirler. Yapısal ve fonksiyonel farklılıklara dayalı olarak İgG; İgG1, İgG2, İgG3 ve İgG4 olmak üzere dört yapısal alt sınıfa ayrılmıştır. İgG, vücut-kan konsantrasyon oranı bakımından en yüksek grup olup lenf

düğümleri, dalak ve kemik iliğindeki plazma hücreleri tarafından üretilir. Antikor aracılı vücut savunmasında baş rolü üstlenir. Toksinler gibi bakteri orjinli etkenlere karşı toksik etkilerin nötralize edilip bakterilerin yok edilmesinde, kan ve dokulardaki mikroorganizmalara karşı savunmada İgG'nin rolü büyüktür (Salinas-Carmona ve Perez-Rivera 2004, Kaneko ve ark 2006, Schroeder ve Cavacini 2010, Parija 2012, Yılmaz ve Akgül 2014, Tizard 2017, Doğan 2022).

1.7.7. İmmünglobulin M (İgM)

Humoral bağışıklığın önemli bileşenlerinden biri olan İgM, B hücresinin gelişmesi sürecinde eksprese edilen ve bir antijen tehdidine karşı üretilen ilk immünglobulin olup bakteriyel patojenlerin kana geçmesine karşı koruma görevini üstlenir. Genelde bir immunojen ve patojen tarafından maruziyetin teşhisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Schroeder ve Cavacini 2010, Parija 2012). Sekonder lenfoid organlardaki plazma hücreleri tarafından üretilmekte ve yarılanma ömrü 5 gün civarındadır. Bu nedenle serumda İgM'nin varlığı yakın zamanda enfeksiyon geçirildiğini gösterir (Cuesta ve ark 2004, Tekkeşin ve ark 2008, Schroeder ve Cavacini 2010, Tizard 2017, Li ve ark 2020, Sathe ve Cusick 2021). İmmünoglobulin-M plasenta yoluyla yavruya taşınmamaktadır; bu nedenle yenidoğan yavrularda İgM varlığı intrauterin enfeksiyon geçirdiğini gösterir. İmmünoglobulin-M, birincil immun yanıtta üretilen başlıca savunma yapılarıdır. İmmünoglobulin-M molekülünün boyutunun çok büyük olması nedeniyle akut inflamasyonda çok nadiren dolaşım sistemini terk ederek doku sıvılarına geçtiği, asıl görevinin ise dolaşım sisteminin savunması olduğu tespit edilmiştir (Schroeder ve ark 2013, Tizard 2017, Sathe ve Cusick 2021). İgM'nin tespiti, vücudun bir patojene maruz kaldığı ancak o patojenin tespit edildiği zaman içerisinde halen o patojeni barındırdığı ya da vücudun o patojeni başarılı bir şekilde ortadan kaldırdığını göstermez. Çünkü immunolojik plazma hücrelerinin hafızasının uzun süreli olduğu ve patojenin tamamen temizlenmesinden uzun süre geçtikten sonra bile bu patojene karşı antikor üretiminin olduğu, bu durumun İgG içinde geçerli olduğu yapılan çalışmalarca ortaya konmuştur (Sathe ve Cusick 2021). Ensefalitli gençlik hastalıklı köpeklerde antiviral antikor olan İgG düzeyinin hem serum hem de beyin omurilik sıvısında önemli oranda arttığı belirlenmiştir (Jhonson ve ark 1988). Çalışkan ve Burgu (2007) gençlik hastalıklı köpeklerde İgM ve İgG seropozitifliğini sırasıyla % 63.82 ve % 40.42, Esin (2013) İgG seropozitifliğini

% 60.34, McRee ve ark (2014) İgG seropozitifliğini %34 olarak belirlemişlerdir. Her ne kadar gençlik hastalığına spesifik İgM saptanması enfeksiyonun akut fazda olduğunu (Waner ve ark 2003) gösterse de İgM konakçının immun durumuna ve virusun serotipine göre gençlik hastalıklı köpeklerde 5 hafta ile 3 ay seropozitifliğin devam ettiği gösterilmiştir (Appel ve Summers 1999). Saltık ve Kale (2020) köpek gençlik hastalığının akut fazında *canine distemper virus*'una özgü İgM ve İgG seropozitifliğini, geç fazında ise İgG seropozitifliğini belirlemişler ve gençlik hastalığının erken teşhisinde bu immunoglobulin düzeylerinin belirlenmesinin faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

İnsan ve buzağılarda beyin hasarını belirlemede kullanılan S100B, ADM, Aktivitin A, NSE, GFAP, UCHL1 ve CK-BB (Bennet ve ark 2010, Bersani ve ark 2015, Ok ve ark 2022, İder ve ark 2023) gibi beyin hasar biyobelirteçleri ile sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde gelişen ensefalomiyelitisinde oluşan beyin hasarını belirlemede kullanılabilirliği ve bu belirteçlerinin hangisinin güvenilir diyagnostik özelliğe sahip olduğu bu tez çalışmasında değerlendirildi.

Bu çalışma, insanlarda ve buzağılarda çeşitli nedenlere bağlı beyinde oluşan hasarın belirlenmesinde beyine özgü hasar biyobelirteçlerin diyagnostik öneme sahip olduğu savından yola çıkarak köpeklerin öldürücü viral hastalığı olan gençlik hastalığının sinirsel formunda beyin ve spinal kortta oluşan hasar ve boyutunu beyine özgü hasar biyobelirteçler ile ortaya koyma düşüncesiyle hipotez edilmiştir. Sunulan çalışmanın birincil amacı, sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde sinir sisteminde oluşan hasar ve boyutunun belirlenmesinde secilmiş beyin hasar biyobelirteçlerin kullanılabilirliğinin değerlendirilmesidir. İkincil amacı ise beyin hasar biyobelirteçlerinden hangisinin hastalığın teşhisinde güvenilir diyagnostik öneme sahip olduğu tespit etmektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan materyali

Bu araştırmanın materyalini, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Küçük Hayvan Hastanesi İç Hastalıklar Kliniğine getirilen 3 aylık ile 1 yaş aralığında ve farklı ırktan 36 sinirsel formlu gençlik hastalıklı (Hasta grup) ve 16 sağlıklı (Sağlıklı grup) köpek oluşturdu. Otuz altı sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerin tamamının aşısız olduğu saptandı.

1. Sağlıklı grup (16 adet sağlıklı köpek)
2. Hasta grup (36 adet sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpek)

2.2. Gereç

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında yürütüldü. Çalışmanın gerçekleştirilmesi için Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi (SÜVDAFEK)'den Etik Kurulu onayı (2021/118 sayılı kararı) alındı.

2.3. Hasta ve Sağlıklı Grubun Oluşturulması

2.3.1. Sinirsel Formlu Gençlik Hastalıklı Köpeklerin Seçimi

Hasta grubu, sinirsel bozukluk şikâyeti ile Küçük Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Kliniğine getirilen 3 ay-1 yaş ve farklı ırklarda (15 melez köpek, 11 kangal, 2 Labrador, 2 Husky, 2 Aksaray Malaklısı, 1 Akbaş, 1 Rotweiller, 1 Golden, 1 Alman Çoban köpeği) 36 adet köpek oluşturdu. Sinirsel bozukluk (ataksi, hipermetri, konvulsiyon, miyoklonus) belirtisi olan köpeklerin anemnez, cinsiyet, yaşı ve sinirsel bozukluk bulguları kaydedildi. Köpeklere, klinik ve laboratuvar muayene (hemogram, kan gazı) ve CDV hızlı Antigen (CDV Ag) testi pozitifliğine göre sinirsel formlu gençlik hastalığı tanısı kondu ve çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen köpeklerden nazal sürüntü ve tam kandan PCR analizi yapılarak gençlik hastalığı tanısı doğrulandı. Ölen 3 köpeğin nekropsisi yapıldı ve histopatolojik incelemesi ile de

sinirsel formu gençlik hastalığı olduğu doğrulandı. Ayrıca bazı köpeklerin konjunktivalarından alınan biyopsilerde hastalığa özgü inklüzyon cisimciği saptandı.

2.3.2. Sağlıklı Köpeklerin Seçimi

Aşı veya sağlık kontrolü amacıyla Küçük Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları kliniğine getirilen ve sahibinden izin alınan 3 ay ile 1 yaş aralığında ve farklı ırkta (5 melez köpek, 2 Golden, 2 Aksaray Malaklısı, 1 Alman Çoban, 1 Rotwieller, 2 Terrier, 3 Kangal) 16 köpeğin klinik, laboratuvar (hemogram ve venöz kan gazı) ve CDV Ag test muayeneleri yapıldı. Klinik bulguları normal olan, venöz hemogram ve kan gazı sonuçları normal aralıklarda, CDV Ag testi ise negatif olan köpekler sağlıklı kabul edildi ve çalışmaya alındı.

2.3.3. Kan Örneklerinin Toplanması

Bütün köpeklerden hemogram, kan gazı ve serum örnekleri için antikoagülanlı ve antikoagülanlı kan örnekleri *vena safhena* veya *sefalika*'dan bir kez alındı. Hemogram ölçümü için K₃EDTA'lı tüp, serum için anti koagülanlı tüp, kan gaz ölçümü için ise heparinli enjektörler kullanıldı. K₃-EDTA'lı kan örneğinden hemogram ölçümü, heparinli kan örneğinden kan gazı ölçümü, serum örneklerinden ise beyin hasar biyobelirteç ölçümü yapıldı. Hemogram ve kan gaz analizleri 5-10 dakika içinde yapıldı. Biyobelirteç analizler için alınan kan örnekleri oda ısısında 15 dakika bekletildikten sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı ve serumlar analiz yapılmaya kadar -20°C'de saklandı.

2.3.4. Beyin Omurilik Sıvı Alınımı

Sadece sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerden atlanto-oksipital eklemden BOS alındı. Hayvan refahını sağlamak ve acı vermemek için köpeklere hafif trankilizan olarak ksilazin hidroklorat (Rompun® Bayer, İstanbul) 1.5 cc /10 kg CA intramusküler ve atlanto-oksipital eklem bölgesine lokal anestezik olarak 0.5 mL lidokain hidroklorür (Lydocon® Pharmavision, İstanbul) yapıldı. Bölgenin traş ve

asepsisini takiben bistürü ucu ile deriye çok küçük ensizyon uygulandı. Hayvan sağ tarafa yatırıldıktan sonra ensizyon hattından özel BOS alma iğnesi (22 gauge) ile spatium atlanto occipitale girilerek K₃-EDTA'lı tüplere 3-5 mL BOS alındı.

2.3.5. PCR Örneklerin Toplanması

Sinirsel forumlu gençlik hastalıklığı semptomlarına sahip 36 köpekten tam kan ve nazal sürüntü örnekleri toplandı. Kan örnekleri steril enjektörler kullanılarak alındı ve örnekler K₃-EDTA ihtiva eden tüplere aktarıldı. Numuneler alındıktan sonra oda sıcaklığında 1 saat bekletilip 5 dk süresince 3500 rpm'de santrifüj işlemi gerçekleştirildi. İşlem sonunda lökosit tabakası (Buffy coat) ayırt edildi ve -20 °C'de stoklanmak amaçlı numaralandırılmış steril ependorf tüplerine aktarıldı. Nazal sürüntü örnekleri ise ticari sürüntü çubukları (swap) kullanılarak toplandı. Nazal swap numuneleri 2 mL 25.000 U/mL Penisilin ve 20 mg/mL streptomisin içeren Fosfat Tampon Tuz Solüsyonu (Phosphate Buffered Saline (PBS)) içerisinde muhafaza edildi. Sürüntü tüpleri vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra tampon sıvı 1,5 ml'lik DNase RNase ari tüplere aktarıldı ve -20 °C'de saklandı. Lökosit tabakası (Buffy coat) ayrıştırılan örnekler ve nasal sürüntü numuneleri moleküler tanı için soğuk zincir altında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji laboratuvarına getirildi.

2.4. Yöntem

2.4.1. Kan Gazı Ölçümü

Tüm köpeklerden alınan heparinli venöz kan örneklerinden pH, PCO₂, PO₂, BE, SatO₂, HCO₃, Na, K, Cl, iCa, glikoz ve laktat parametreleri ABL 90 Flex (Radiometer Medical ApS, Denmark) kan gaz cihazında ölçüldü.

2.4.2. Hemogram Ölçümü

Tüm köpeklerden alınan K₃EDTA'lı venöz kan örneklerinden total lökosit (WBC), granülosit (GRA), monosit (MON), lenfosit (LYM), total eritrosit (RBC), hemoglobin (Hb), hemotokrit (Hct) ve trombosit (PLT) parametreler MS4e cihazında

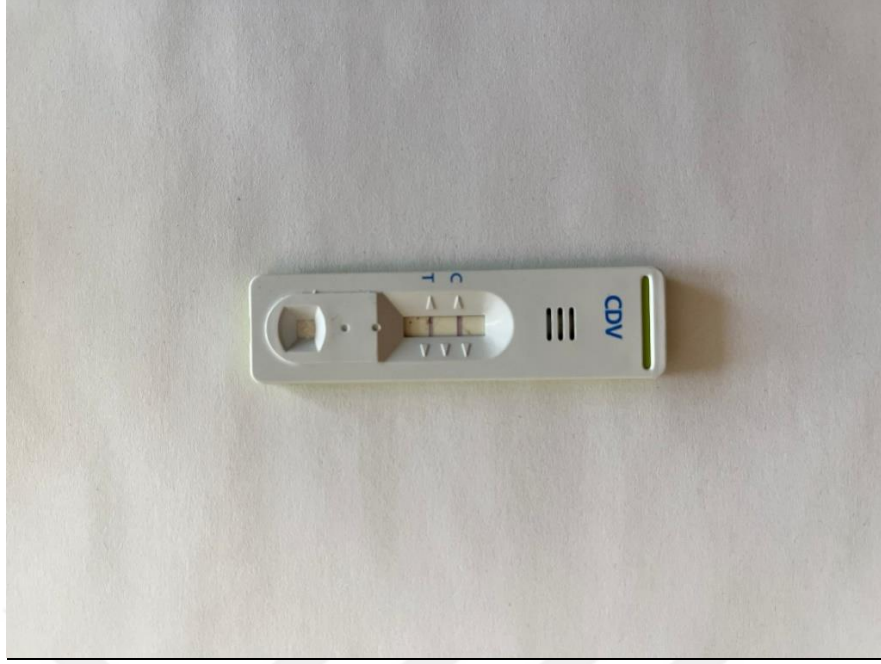
(CFE 279, Haematology Analyser. Melet Schlosing Laboratories. France) ölçüldü.

2.4.3. Canine Distemper Virus (CDV) Ag Hızlı Testi Uygulaması

Sinirsel formu gençlik hastalığından şüphelenilen köpeklerin nazal ve konjunktivalarından alınan sıvı örneklerine CDV Ag test uygulaması, üretici firmanın (Vetek Medical®, İstanbul) talimatı doğrultusunda yapıldı. Burundan alınan sıvılar, test solusyonu içerisine konarak karıştırıldı. Bu solusyondan test kartı üzerine 3 damla damlatıldı. Test kartı üzerinde tek çizgi oluşumu negatif (Şekil 2.1), iki çizgi oluşumu ise pozitif (Şekil 2.2) olarak kabul edildi. Pozitif olanlar sinirsel formu gençlik hastalıklı olarak değerlendirilip çalışmaya dahil edildi.



Şekil 2.1. Bir köpekte CDV Ag test negatifliği



Şekil 2.2. Gençlik hastalıklı bir köpekte CDV Ag test pozitifliği

2.4.4. Biyobelirteç Ölçümü

Serum ve beyin omurilik sıvısı NSE, GFAP, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları, köpek (Canine) spesifik ELISA ticari test kitleri (ELK Biotechnology, Shanghai, China) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda, Adsorbanslar microplate reader cihazında (ELx800 Absorbance MicraplateMicroplate Reader, United States) ölçüldü. Köpek spesifik **NSE** ticari ELİSA kiti (Kat No: ELK9192, Lot: 20334267250), köpek spesifik **GFAP** ticari ELİSA kiti (Kat No: ELK9719, Lot: 20334270267), köpek spesifik **ADM** ticari ELİSA kiti (Kat No: ELK5647, Lot: 20334260317), köpek spesifik **CK-B** ticari ELİSA kiti (Cat No: ELK9543, Lot: 20324331407), köpek spesifik **ACTA** ticari ELİSA kiti (Kat No: ELK9720, Lot: 20334270270), köpek spesifik **İgG** ticari ELİSA kiti (Kat No: ELK1302, Lot: 20334247726) ve köpek spesifik **İgM** ticari ELİSA kitleri (Kat No: ELK9721, Lot: 20334270271) kullanıldı. Biyobelirteçler için test içi varyasyon katsayısı (CV), testler arası CV ve minimum tespit edilebilir konsantrasyonlar (MDC) **NSE** için $\leq 8\%$, $\leq 10\%$ ve $> 0,63$ ng/mL, **GFAP** için $\leq 8\%$, $\leq 12\%$ ve $> 0,16$ ng/mL, **ADM** için $\leq 8\%$, $\leq 12\%$ ve $> 15,63$ pg/mL, **ACTA** için $\leq 8\%$, $\leq 10\%$ ve $> 15,63$ pg/mL, **CK-BB** için sırasıyla $\leq 8\%$, $\leq 10\%$ ve $> 0,79$ ng/mL, **İgG** için

sırasıyla <%8, <%10 ve >1.57 µg/mL ve **İgM** için sırasıyla <%8, <%10 ve > 0.16 ug/mL’idi.

2.4.5. Tedavi Protokolü

Sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklere desteleyici tedavi uygulandı. Destek tedavisi; sıvı-elektrolit uygulaması, yangı gidericiler, immunomodülatörler, antibakteriyel ve antikonvülzanlardan oluştu. Sıvı tedavisi olarak dengeli serumlar uygulandı. Sekonder enfeksiyonlara karşı seftriakson (Cefaday®, Biofarma, İstanbul) 25 mg/kg dozunda 12 saat arayla 5 gün süreyle kas içi uygulandı. Yangı ve nöral nöbetleri kontrol etme amacıyla analjezikler ve antikonvülzanlar kullanıldı. Bu amaçla yangı giderici olarak deksametazon (Devamed ®, Topkim, İstanbul) 0,25 mg/kg dozunda 3 gün, antikonvülsiyon olarak pregabalin (Lyrica ®, Pfizer, İstanbul) 20 mg/kg dozunda 2 ila 4 hafta oral yolla verildi. İmmunomodülatör olarak 2.5 mg/kg dozunda levamisol (Levaject ®, AGRAR, İstanbul) 3 gün arayla 3 kez derialtı uygulandı. Destekleyici tedavide anoreksiye karşı iştahı tekrardan açmak için B kompleks vitaminleri, MSS’deki antioksidanlara bağlı olarak gelişen doku hasarına karşı A, C ve E vitaminleri verildi.

2.4.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analiz Prosedürü

2.4.6.1. Nazal Swap ve Kan Numunelerinden Virus İzolasyonu:

-20° C ‘de muhafaza edilen tüm numuneler çözündürüldü. Çözünen nazal numuneler +4°C ‘de 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj (VWR, CompactStar CS 4, England) işlemine tabi tutuldu. RNA santrifüjlendikten sonra süpernatantlar ve diğer lökosit örnekleri ticari bir kit (QIAampViral RNA Mini Kit, Catno: 52906) kullanılarak üreticinin talimatlarına göre ekstrakte edildi. Ekstraksiyon ürünleri (viral RNA) kullanılabilece kadar -20 ° C de saklandı.

2.4.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Canine Distemper Virusun One-Step RT-PCR tespiti için, abm MegaFi™ One Step RT-PCR (cat no: G597) master mix kiti kullanılmıştır. 50 ul'lik reaksiyon karışımı: 25 ul 2x buffer, 10ppm Forward primer (Fp) 2 ul ve Revers primer (Rp) 2 ul, Enzim (Revers Transkriptaz) 4ul, Dnase, Rnase free su 12 ul hazırlandı ve bu karışıma 5 ul RNA eklenerek total karışım 50 ul'ye tamamlandı.

Karışım sonunda örnekler thermal ısıtıcıya konuldu (Biorad, USA) ve RT-PCR reaksiyonu, 60 °C'de 15 dk RT basamağı, 98 °C'de 30 sn enzim aktivasyon sıcaklığını takiben, 98 °C'de 10sn, 54 °C'de 25 sn, 72 °C'de 40 sn ve 32 siklus ve 72 °C'de 2 dk son uzama işlemi ile RT-PCR reaksiyonu gerçekleştirildi. Bu amaç doğrultusunda Shin ve ark (2004)'nın yaptıkları çalışmada kullanılan primerler virusun nükleokapsid proteinine özgü tasarlanmış primerler olup, bu çalışmada belirtilen PCR primer çiftleri referans alınmıştır. Reaksiyonda kullanılan oligonükleotid dizileri F: 5'-TCTGAGGCAGATGAGTTCTT-3'; R: 5'-CCATAGCATAACTCCAGAGC-3' şeklindedir.

2.4.6.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi ile Görüntülenmesi

Reaksiyon sonunda PCR ürünleri, %0,01 oranında gel red (Invitrogen SYBR™ Safe DNA Gel Stain) ihtiva eden %2'lik 1x TAE ((Tris-Asetik Asit-EDTA) tamponu ile hazırlanan agaroz jele aktarıldı ve 100 Volt elektrik akımı altında 70 dakika boyunca elektroforez işlemine tabi tutuldu. İşlem sonunda ürünler UV transilluminator ve jel dokümantasyon sistemi kullanılarak jel görüntüleme cihazında incelendi ve 640bp'lık bölgede band gösteren örnekler CDV varlığı açısından pozitif kabul edildi.

2.4.7. İstatistiksel Analiz

Bu araştırmadaki verilerin değerlendirilmesinde SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25,0 Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik programı kullanıldı. Verilerin normal dağılım (parametrik veya nonparametrik) ön şartlarının değerlendirilmesinde One Sample Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı. Çalışmanın verileri parametrik dağılım gösterdiği için

ortalama $\pm$ SE (standard error) şeklinde sunuldu. Gruplar arası karşılaştırmada Independent T testi kullanıldı. Değişkenler arası korelasyonun tespitinde Pearson Korelasyon testi kullanıldı. Testlerin anlamlılık düzeyi için $p < 0,05$ kabul edildi.



3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde konjuktivit, burun ve gözyaşı akıntısı, bazı olgularda burun ucu ve taban yastığında hiperkeratoz (Hard-pad) (Şekil 3.1,3.2, 3.3), temporal ve bacak kaslarında miyoklonus (Şekil 3. 4), bazı olgularda göğüs, sırt ve arka bacaklarda kaslarında miyoklonus, ayrıca bazılarında ise epileptik nöbetler gözlemlendi. Uygulanan tedaviye 5 köpek cevap verirken, 31 köpek tedaviye cevap vermedi ve öldü. Ölüm, 3 hafta ila 6 hafta arasında gerçekleşti. Sağ kalan 5 köpek 1 yıl süreyle takip edildi ve gençlik hastalığı ile ilgili herhangi bir belirti oluşmadığı gözlemlendi. 36 sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeğin aşısız olduğu tespit edildi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Hasta köpeklerin ırk, yaş, aşı durumu, PCR ve CDV Ag ELISA sonuçları

Olgu No	İrk	Yaş	Aşı durumu	PCR analiz sonucu	CDV Ag ELISA test sonucu
1	Melez köpek	9 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
2	Melez köpek	5 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
3	Aksaray Malaklısı	5 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
4	Kangal	2 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
5	Melez köpek	7 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
6	Golden	6 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
7	Kangal	6 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
8	Melez köpek	3 aylık	AŞISIZ	-	Pozitif
9	Melez köpek	6 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
10	Kangal	6 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
11	Kangal	12 aylık	AŞISIZ	-	Pozitif
12	Kangal	11 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
13	Melez köpek	6 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
14	Kangal	4 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
15	Kangal	3 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
16	Melez köpek	4 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
17	Melez köpek	3 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
18	Kangal	12 aylık	AŞISIZ	-	Pozitif
19	Husky	6 aylık	AŞISIZ	-	Pozitif
20	Alman Çoban	5 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif
21	Melez köpek	4 aylık	AŞISIZ	Pozitif	Pozitif

22	Kangal	4 aylık	Aşısız	-	Pozitif
23	Aksaray Malaklısı	5 aylık	Aşısız	Pozitif	Pozitif
24	Labrador	3 aylık	Aşısız	-	Pozitif
25	Husky	10 aylık	Aşısız	-	Pozitif
26	Labrador	8 aylık	Aşısız	-	Pozitif
27	Melez köpek	3 aylık	Aşısız	-	Pozitif
28	Rotwieller	7 aylık	Aşısız	Pozitif	Pozitif
29	Akbaş	7 aylık	Aşısız	Pozitif	Pozitif
30	Kangal	5 aylık	Aşısız	-	Pozitif
31	Kangal	12 aylık	Aşısız	-	Pozitif
32	Kangal	4 aylık	Aşısız	-	Pozitif
33	Melez köpek	5 aylık	Aşısız	Pozitif	Pozitif
34	Melez köpek	4 aylık	Aşısız	Pozitif	Pozitif
35	Melez köpek	6 aylık	Aşısız	-	Pozitif
36	Melez köpek	3 aylık	Aşısız	-	Pozitif



Şekil 3.1. Gençlik hastalıklı bir köpekte burun ve gözlerde akıntı



Şekil 3.2. Gençlik hastalıklı bir köpekte burun ucunda hiperparakeratoz



Şekil 3.3. Gençlik hastalıklı köpekte taban yastığında hiperparakeratoz



Şekil 3.4. Gençlik hastalıklı bir köpekte sağ arka bacakta miyoklonus (tik)

3.2. Kan Gazları Bulguları

Sağlıklı ve hasta köpeklerin venöz kan gazı sonuçları Çizelge 3.2’de sunulmuştur. Hasta köpeklerin Kan pH, pCO_2 , pO_2 , SO_2 , K, Na, BE, HCO_3 , glikoz ve laktat düzeylerinde sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak farklılık belirlenmedi ($p>0,05$) (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Sağlıklı ve hasta köpeklerin venöz kan gazları parametre ortalamaları ve önemlilikler (mean $\pm$ SE)

Parametre	Sağlıklı grup (n:16)	Hasta grup (n:36)	P değeri
pH	7,38 $\pm$ 0,008	7,36 $\pm$ 0,012	p =0.274
pCO_2 (mmHg)	40,37 $\pm$ 2,3	37,41 $\pm$ 0,90	p =0.251
pO_2 (mmHg)	36,91 $\pm$ 2,2	36,86 $\pm$ 1,4	p =0.985
SO_2 (%)	60,6 $\pm$ 3,7	57,9 $\pm$ 2,7	p =0.550
K (mmol/L)	4,01 $\pm$ 0,06	4,02 $\pm$ 0,08	p =0.932
Na (mmol/L)	148,73 $\pm$ 1,6	150,33 $\pm$ 2,4	p =0.239
Glikoz (mg/dL)	86,1 $\pm$ 3,2	91,2 $\pm$ 3,1	p =0.258
Laktat (mmol/L)	1,84 $\pm$ 0,09	1,64 $\pm$ 0,12	p =0.211
BE (mmol/L)	-2,19 $\pm$ 0,78	-3,26 $\pm$ 0,64	p =0.299
HCO_3 (mmol/L)	21,83 $\pm$ 0,59	21,34 $\pm$ 0,46	p =0.512

pH (hidrojen iyon konsantrasyonunun eksi logaritması), pCO_2 (kısmi karbondioksit basıncı), pO_2 (kısmi oksijen basıncı), SO_2 (oksijen saturasyonu), K (potasyum), Na (sodyum), BE (Baz açığı), HCO_3 (bikarbonat), ve anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

3.3. Hemogram Bulguları

Sağlıklı ve hasta köpeklerin hemogram parametreleri Çizelge 3.3'te sunulmuştur. Hasta köpeklerin WBC, LYM ve MON sayılarında sağlıklılara göre istatistiksel olarak önemli artış ($p < 0,01$), RBC, MCV, MCHC ve Hb değerlerinde ise ($p < 0,01$) azalma gözlemlendi ancak bu değerler referans aralığındaydı. Bununla birlikte kan GRA, Hct, ve PLT değerlerinde sağlıklı köpeklere göre istatistiksel açıdan bir farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$) (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Sağlıklı ve hasta köpeklerin hemogram parametre ortalamaları ve önemlilikler (mean $\pm$ SE)

Parametre	Sağlıklı grup (n:16)	Hasta grup (n:36)	P değeri
WBC (m/mm ³)	12,25 $\pm$ 1,0	19,71 $\pm$ 1,3	p=0.001
LYM (m/mm ³)	1,92 $\pm$ 0,21	5,82 $\pm$ 0,40	p=0.001
MON (m/mm ³)	0,66 $\pm$ 0,08	2,88 $\pm$ 0,22	p=0.001
GRA (m/mm ³)	9,66 $\pm$ 0,89	11,00 $\pm$ 1,1	p=0.350
RBC (m/mm ³)	7,01 $\pm$ 0,25	6,05 $\pm$ 0,19	p=0.03
MCV (fl)	69,15 $\pm$ 1,1	63,46 $\pm$ 1,2	p=0.001
Hct (%)	47,10 $\pm$ 1,6	43,46 $\pm$ 1,3	p=0.091
MCHC (g/dL)	32,68 $\pm$,57	29,78 $\pm$ 0,42	p=0.001
Hb (g/dL)	15,80 $\pm$ 0,59	12,85 $\pm$ 0,36	p=0.001
PLT (m/mm ³)	327,00 $\pm$ 33,00	311,00 $\pm$ 22,00	p=0.699

WBC (total lökosit), LYM (lenfosit), MON (monosit), GRA (granülosit), RBC (eritrosit), MCV (ortalama eritrosit hacmi), Hct (hematokrit), MCHC (ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu), Hb (hemoglobin), PLT (trombosit)ve anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

3.4. Biyobelirteç Bulguları

Sağlıklı ve hasta köpeklerin beyin hasar biyobelirteç parametreleri Çizelge 3.4'te sunulmuştur. Hasta köpeklerin serum NSE, GFAP, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonlarında sağlıklılara göre istatistiksel olarak önemli artış ($p < 0.01$), serum ADM ve ACTA konsantrasyonlarında ise herhangi bir farklılık belirlenmedi (Çizelge 3.4). Hasta köpeklerin beyin omurilik sıvı GFAP, NSE, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonlarında serumda olduğu gibi artış tespit edildi (Çizelge 3.5, Grafik 3.1). Ayrıca serum GFAP, NSE, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları ile beyin omurilik sıvı GFAP, NSE ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları arasında korelasyon saptanmadı (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.4. Sağlıklı ve hasta köpeklerin biyobelirteç parametreleri ortalamaları ve önemlilikler (mean±SE)

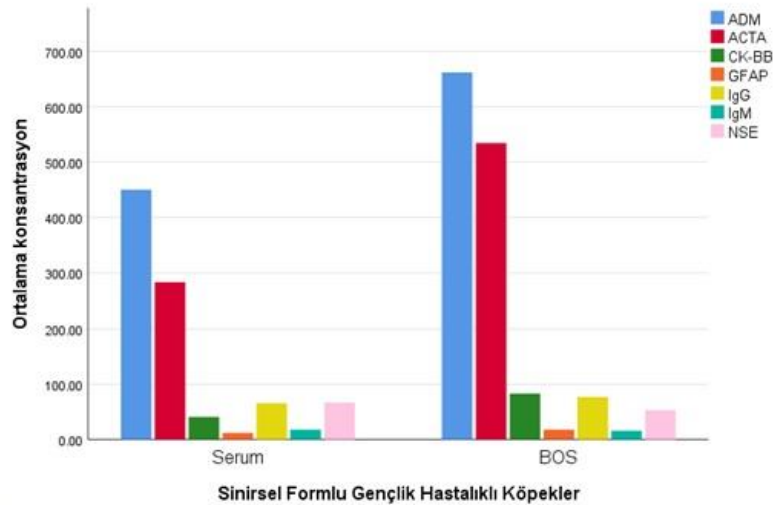
Parametre	Sağlıklı grup (n:16)	Hasta grup (n:36)	P value
NSE (ng/mL)	34.01±3.78	66.50±3.77	p=0.000
GFAP (ng/mL)	3.43±1.04	11.87±1.53	p=0.000
CK-BB (ng/mL)	22.31±2.83	40.63±3.97	p=0.000
ADM (pg/mL)	473,59±34.26	450,27±49.22	p=0.699
ACTA (pg/mL)	306.45±35.13	283.74±39.62	p=0.670
İgG (µg/mL)	23.82±3.49	65.30±9.43	p=0.000
İgM (ug/mL)	3.70±0.66	17.73±1.70	p=0.000

NSE (Nöron spesifik enolaz) GFAP (Glial fibriler asit protein), ADM (Adrenomodülin), ACTA (Aktivitin A), CK-BB (Kreatin kinaz-beyin), İgG (İmmunoglobulin G), İgM (İmmunoglobulin M) ve anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

Çizelge 3.5. Sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum ve BOS biyobelirteç ortalamaları

Parametre	Serum (n:36)	BOS (n:36)
NSE (ng/mL)	66.50±3.77	52.79±3.95
GFAP (ng/mL)	11.87±1.53	17.76±1.77
CK-BB (ng/mL)	40.63±3.97	82.98±9.21
ADM (pg/mL)	450.27±49.22	661.90±76.68
ACTA (pg/mL)	283.74±39.62	534.58±47.32
İgG (µg/mL)	65.30±9.43	76.55±10.77
İgM (ug/mL)	17.73±1.70	15.74±2.14

NSE (Nöron spesifik enolaz) GFAP (Glial fibriler asit protein), ADM (Adrenomodülin), ACTA (Aktivitin A), CK-BB (Kreatin kinaz-beyin), İgG (İmmunoglobulin G), İgM (İmmunoglobulin M)



Grafik 3.1. Sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum ve BOS biyobelirteç düzeyleri

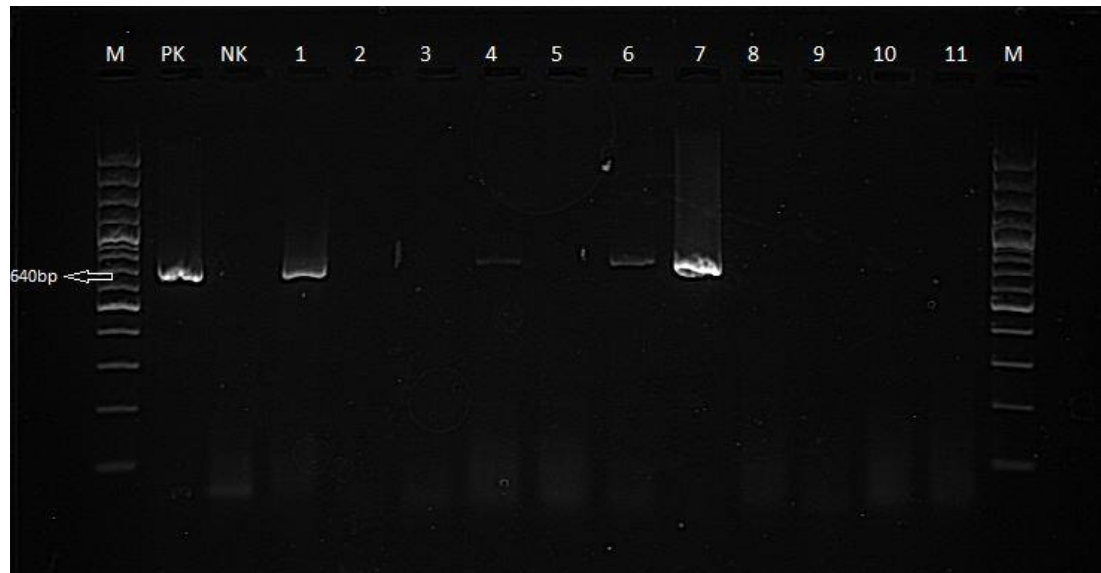
Çizelge 3.6. Sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum ve BOS biyobelirteçleri arasındaki korelasyon (Pearson korelasyon testi).

Parametre	BOS							
		ADM	ACT	CK-BB	GFAP	IgG	IgM	NSE
Serum	ADM	-0.12						
	ACT		-0.25					
	CKBB			0.01				
	GFAP				0.01			
	IgG					-0.03		
	IgM						0.06	
	NSE							0.24

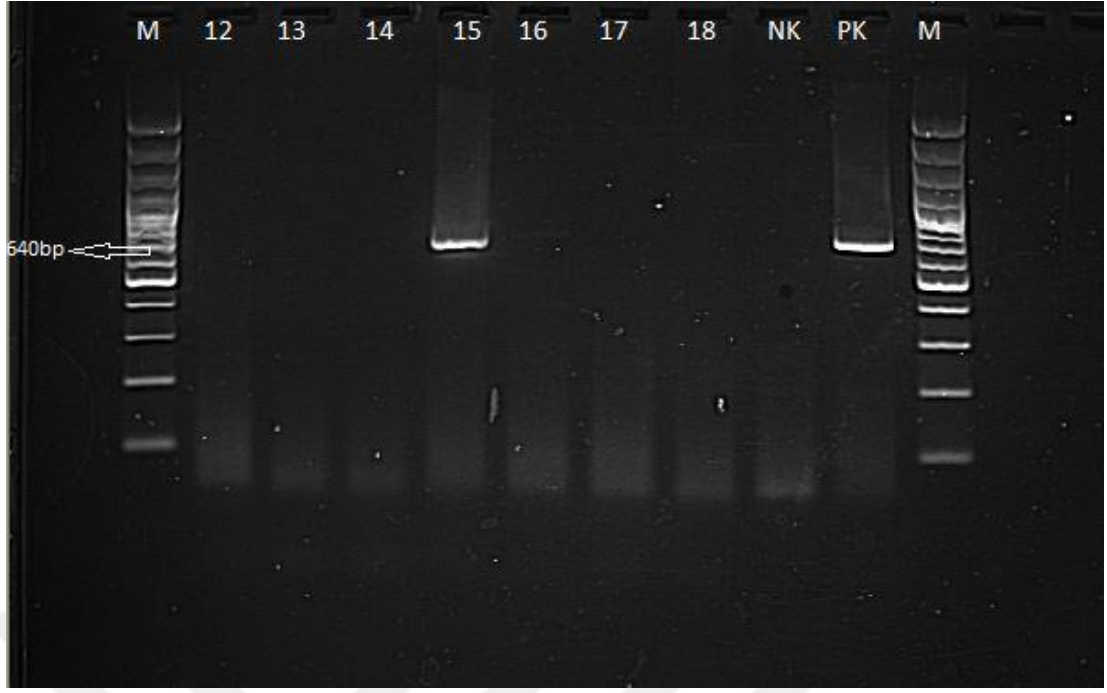
NSE (Nöron spesifik enolaz) GFAP (Glial fibriler asit protein ADMA (Asimetrik dimetil arjinin), ACTA (Aktivitin A), CK-B (Kreatin kinaz-beyin), İgG (İmmunoglobulin G), İgM (İmmunoglobulin M).

3.5. PCR ve CDV Ag ELISA Bulguları

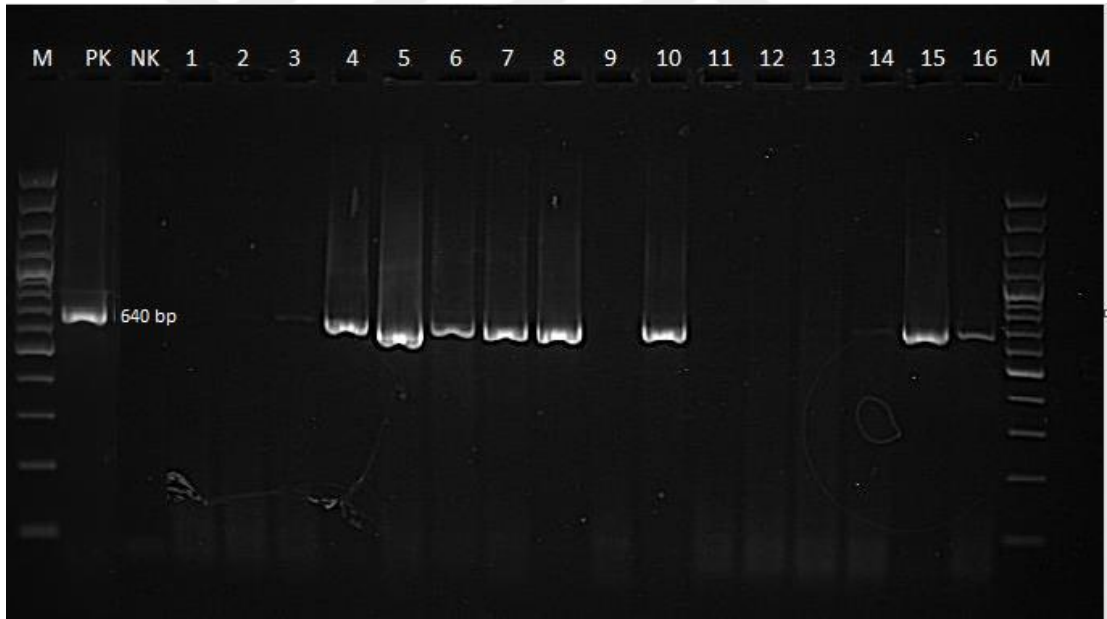
Otuz altı sinirsel formu gençlik hastalıklı köpekten alınan nazal sürüntüye CDV Ag ELISA test uygulandı ve tüm vakalar CDV yönünde pozitif bulundu (Çizelge 3.1). Bunun yanında 15 adet lökosit ve 21 nazal sürüntü örneklerinin ekstraksiyonu ve PCR testleri yapıldı. Toplamda 6 lökosit örneği (Şekil 3.5, 3.6) ve 16 nazal sürüntü örneği (Şekil 3.7, 3.8) CDV yönünden pozitif bulundu (Çizelge 3.1).



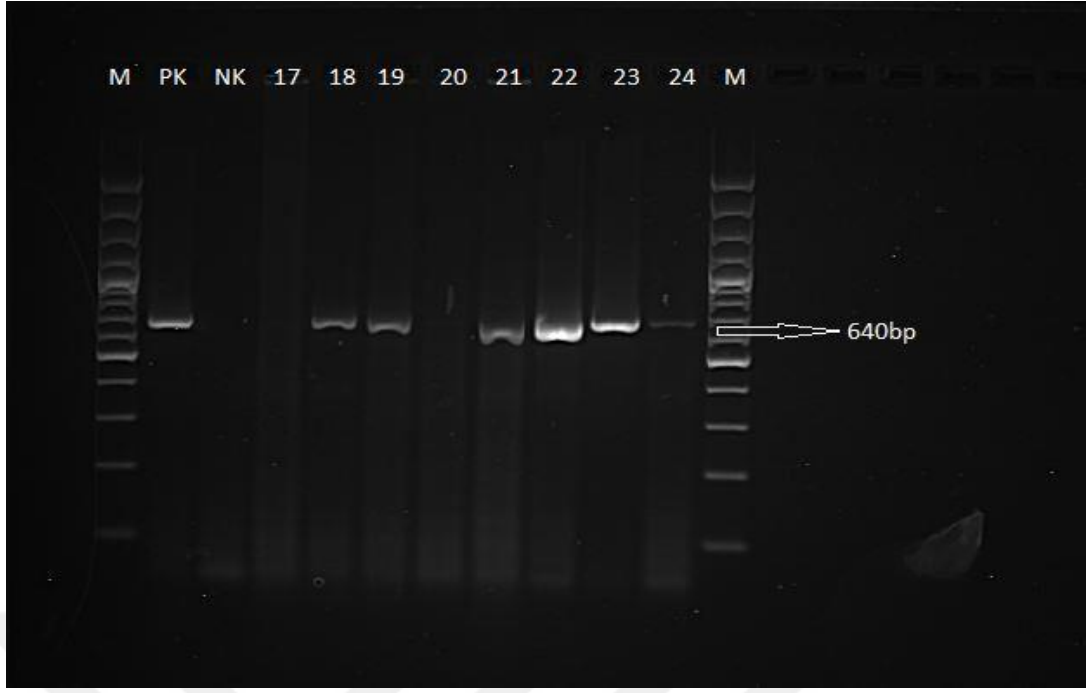
Şekil 3.5. Lökosit örneklerinde PCR CVD pozitifliği



Şekil 3.6. Lökosit örneklerinde PCR CDV pozitifliği



Şekil 3.7. Nazal sürüntü örneğinde PCR CDV pozitifliği



Şekil 3.8. Nazal sürüntü örneğinde PCR CDV pozitifliği

4. TARTIŞMA

4.1. Klinik Bulgular

Köpek gençlik hastalığının sistemik formunda yaygın klinik bulgular; konjunktivit, burun ve gözyaşı akıntısı, gözlerde çapaklanma, kusma, ishal, bazı olgularda burun ucu ve taban yastığında hiperkeratoz (Hard-pad) iken, sinirsel formunda kısmi veya tam tetraparezis, serebellar ve vestibular semptomlar, miyoklonus, görme bozukluğu, nöbetler ve demansdır (Galan ve ark 2014, Gülersoy ve ark 2022a). Özellikle sinirsel formda temporal ve ön bacak kaslarında miyoklonus (tik) ve ağızda sakız çiğneme hareketleri, hastalığının en tipik bulgularıdır. Hastalığı atlatıp iyileşen köpeklerde görme ve işitme bozukluğu kalıcı olabilir (Amude ve ark 2006). Hastalık yavaş ilerleyerek hastada inkoordinasyon, çift ya da tek yönlü kafa sallama, nistagmus, yüz ve çiğneme kaslarında felce yol açabilir (Gülersoy ve ark 2020a). Sunulan bu çalışmada araştırmacıların (Amude ve ark 2006, Galan ve ark 2014, Gülersoy ve ark 2020, Gülersoy ve ark 2022) bildirimleri ile uyumlu olarak sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde konjunktivit, burun ve gözyaşı akıntısı, bazı olgularında burun ucu ve taban yastığında hiperkeratoz (Hard-pad), temporal ve ön bacak kaslarında miyoklonus, ağızda çiğneme-sakız hareketleri bazı olgularda göğüs, sırt ve arka bacaklarda kaslarında miyoklonus, ayrıca bazı olgularda ise epileptik nöbetler gözlemlendi. Uygulanan tedaviye 5 köpek cevap verirken, 31 köpek tedaviye cevap vermedi ve öldü. Ölümünün, 3 hafta ila 6 hafta arasında gerçekleştiği görüldü. Sağ kalan 5 köpek 1 yıl süreyle takip edildi ve gençlik hastalığı ile ilgili herhangi bir belirti oluşmadığı gözlemlendi.

4.2. Biyobelirteç Bulguları

Sunulan bu çalışmada, sinirsel formlu gençlik hastalığı tanısı konan köpeklerde kan serum örneklerinden beyin hasar biyobelirteçlerden NSE, GFAP, ADM, ACTA, İgM ve İgG konsantrasyonları ve CK-BB enzim aktivitesi ölçüldü. Çalışma sonuçlarına göre sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde sinirsel hasara bağlı NSE ve GFAP konsantrasyonları ve CK-BB enzim aktivitesi ile birlikte İgG ve İgM

düzeylerinde önemli artış meydana geldiği belirlendi. Köpeklerde bu konuda çalışmaya rastlanılmadığından, tartışma insan ve buzağı referansları ile yapılmıştır.

Astrositler, oligodendrositler ve nöronlardan salınan nörona özgü enolaz konsantrasyonundaki artış, beyin hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir (Kapurall ve ark 2002, Marchi ve ark 2004). Serum ve beyin omurilik sıvısı NSE konsantrasyonunun, beyin ve kan-beyin bariyer bozukluğunda arttığı saptanmıştır (Phalman ve ark 1984). Asfeksili bebeklerde serum NSE konsantrasyonunun önemli oranda yükseldiği tespit edilmiştir (Massaro ve ark 2012). Benzer olarak, hipoksik işemik ensefalopatili neonatal bebeklerin serum ve beyin omurilik sıvı NSE konsantrasyonunda artış saptanmıştır (Celtik ve ark 2004, Lv ve ark 2015). Liu ve ark (2005) hipoksik işemik ensefalopatili hastalarda, NSE konsantrasyonunun çok yüksek olmasının kötü prognoza işaret ettiğini bildirmişlerdir. Neonatal hipoksik işemik ensefalopatiye bağlı oluşan beyin hasarının teşhis ve prognozunun belirlenmesinde, nöral görüntüleme tekniği ile NSE biyobelirteç ölçümü arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir (Roka ve ark 2012). Ok ve ark (2022) hipoksik işemik ensefalopatili perinatal buzağılarda serum NSE konsantrasyonunun istatistiksel olarak sağlıklı buzağılara göre önemli azalma olduğunu rapor etmişlerdir. İder ve ark (2023) hipoglisemik buzağıların serum NSE konsantrasyonunun sağlıklı buzağılara kıyasla önemli oranda arttığını bildirmişler ve bu artışı beyin hasar gelişimine bağlamışlardır. Sunulan bu çalışmada sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum NSE konsantrasyonunda sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak önemli artış ($p<0.01$) tespit edildi (Çizelge 3.4). Aynı zamanda, bu köpeklerin beyin omurilik sıvısı NSE konsantrasyonunda da yüksek bulundu (Çizelge 3.5, Grafik 3.1). Serum GFAP, NSE, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları ile serebrospinal sıvı GFAP, NSE ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları arasında korelasyon saptanmadı (Çizelge 3.6). Pek çok araştırmacı insanlarda (Phalman ve ark 1984, Kapural ve ark 2002, Celtik ve ark 2004, Marchi ve ark 2004, Massaro ve ark 2012, Lv ve ark 2015) ve buzağıda (İder ve ark 2023) değişik nedenlere bağlı gelişen beyin hasarında serum NSE konsantrasyonunda önemli artış şekillendiği bildirimine uyumlu olarak sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde de serum NSE konsantrasyonunda anlamlı artış tespit edilmiştir. Celtik ve ark (2004) ve Lv ve ark (2015) hipoksik işemik ensefalopatili neonatal bebeklerin serum ve beyin omurilik sıvısı NSE

konsantrasyonunun arttığı raporuna uyumlu olarak sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde de serum ve beyin omurilik sıvısı NSE konsantrasyonunun yüksek olduğu görüldü. Buna karşın, bu çalışmadan elde edilen NSE sonuçları Ok ve ark (2022)'ın sonuçları ile uyumluluk göstermedi. Bunun nedeni, Ok ve ark (2022) hipoksik işemik ensefalo patili perinatal buzağılarda serum NSE konsantrasyonunda azalmayı beyin gelişim süreci devam ettiğinden ilk günlerde beyin yapısı daha az sayıda glia ve akson içermesi ve miyelinizasyonun tamamlanmamış olmasına bağlamışlardır. Halbuki bu çalışmadaki köpekler merkezi sinir sistemin gelişimini tamamlamıştır. Bu köpeklerin serum ve beyin omurilik sıvısında NSE konsantrasyonunun yüksek olması, *canine distemper virus*'unun neden olduğu ensefalomyelitis gelişimi ilişkin hasarlı nöranlardan NSE belirtecini yoğun şekilde BOS ve kana salınımı ile ilişkilendirilebilir. Sonuçta NSE biyobelirtecini beyin hasarının belirlenmesinde güvenilir diyagnostik öneme sahip olabileceği düşünülmektedir.

Glial fibriler asitik protein, merkezi sinir sistemi dışında diğer organlardan salınımı oldukça düşüktür ve yüksek serum GFAP konsantrasyonun temel sebebi, beyin hasarı ve bölgesel nekrozu takiben astrosit aktivasyonudur (Kawata ve ark 2016). Astrositler, hipoglisemik koşullarda nöronlara alternatif enerji sağlayarak beyin nöronal homeostazının korunmasında hayati rol oynar (Bakken ve ark 1998). Deneysel olarak hipoglisemi oluşturulan ratlarda hipoglisemi ile ilişkili beyin hasarı geliştiği ve GFAP salınımının arttığı bildirilmiştir (Sahin ve ark 2013). Geçici hipoglisemik koma oluşturulan ratlarda da GFAP-pozitif astrositlerin sayısında artış belirlenmiştir (Tomita ve ark 2020). Pekçok araştırmacı (Afsari ve ark 2008, Hashish 2015) astrositlerin, anormal glikoz homeostazı sırasında nöroprotektif rol oynadığını vurgulamışlardır. Neonatal ensefalo patili (Yang ve ark 2022) ve hipoksik işemik ensefalo patili bebeklerde (Florio ve ark 2010) serum GFAP düzeyinde önemli artış tespit edilmiştir. Hipoksik işemik ensefalo patili perinatal buzağılarda serum GFAP konsantrasyonunda istatistiksel olarak sağlıklı buzağılara göre farklılık gözlenmediği ve bu buzağılarda orta ve şiddetli dereceye varan hipoksik işemik ensefalopati gelişmesine rağmen, serum GFAP konsantrasyonunda artışın olmamasının sebebini, GFAP belirtecini genellikle astrosit içinde bulunan bir protein olmasından kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Ok ve ark 2022). Zira astrositlerin yapıları ciddi boyutta hasar oluşmadıkça bozulmaz ve GFAP kana yeterince salınmaz

(Noorishadkam ve ark 2020). Ennen ve ark (2011) yenidoğan bebeklerde yapısal beyin hasarlarında GFAP düzeyinde artış olmadığını bildirmişlerdir. İder ve ark (2023) hipoglisemik buzağuların GFAP konsantrasyonunun sağlıklı buzağılara kıyasla önemli oranda yüksek olduğunu ve bu yüksekliğin glial hasar, astrosit aktivasyonu (Kawata ve ark 2016, Tomita ve ark 2020) ve nöroprotektif rolü (Afsari ve ark 2008, Hashish 2015) ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Sunulan bu çalışmada sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum GFAP konsantrasyonunda sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak önemli artış ($p<0.00$) belirlendi (Çizelge 3.4). Aynı zamanda, bu köpeklerin beyin omurilik sıvı GFAP düzeyi de yüksek bulundu (Çizelge 3.5, Grafik 1). Ancak, serum NSE, GFAP, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları ile serebrospinal sıvı NSE, GFAP, ADM, ACTA, CK-B, İgG ve İgM konsantrasyonları arasında korelasyon saptanmadı (Çizelge 3.6). Bu araştırmada, pek çok araştırmacının (Afsari ve ark 2008, Hashish 2015, Kawata ve ark 2016, Tomita ve ark 2020, İder ve ark 2023) beyin hasarında yüksek serum GFAP konsantrasyonu bildirimleri ile uyumlu olarak sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde tespit edilen yüksek serum ve beyin omurilik sıvısı GFAP konsantrasyonunu, glial hasar, astrosit aktivasyonu ve bu biyobelirtecın nöron korumak amacıyla salınımının artması ile ilişkilendirilmiştir.

Adrenomodulin, hemorajik veya iskemik inme ve travmatik beyin hasarına karşı nöron koruyucu etkiye sahiptir. Ek olarak, ADM sinirsel hasar oluşumlarında nöral yenilenmeyi teşvik etmek için bir düzenleyici olarak rol oynar (Li ve ark 2020). Akut iskemik felçli insanlarda plazma ADM seviyesinin arttığını, bu artışın uzun süre devam ettiği bildirilmiştir (Somay ve ark 2007, Zhang ve ark 2014). ADM konsantrasyonundaki artışın, sinirsel hasarın şiddeti ve beyin damar enfarktüsünün genişliğine göre değişiklik gösterebileceği rapor edilmiştir (Serrano-Ponz ve ark 2016). Hipoksik iskemi ve hipoglisemi durumlarında, merkezi korteks nöronlarında endotel ve perivasküler glial hücrelerde ADM salınımının arttığı gözlemlenmiştir (Serrano ve ark 2002). ADM, akut beyin kanaması ve travmatik beyin hasarının tahmininde kullanılabilecek faydalı bir biyobelirteç olduğu ifade edilmektedir (Chen ve ark 2014, Whang ve ark 2014). Birçok araştırmacı akut iskemik ensefalopatilerde (Somay ve ark 2007, Chen ve ark 2014, Zhang ve ark 2014, Whang ve ark 2014, Serrano-Ponz ve ark 2016) serum ADM konsantrasyonunda önemli artış

belirlemişlerdir. Buna karşın, Mitome- Mishima ve ark (2014) uzun süreli serabral hipoperfüzyona bağlı gelişen işemik beyin beyaz madde hasarlı farelerde, Ok ve ark (2022) hipoksik işemik ensefaloatili perinatal buzağılarda ve Mahmoodazdeh ve ark (2020) ise hipoksik işemik ensefaloatili insanlarda serum ADM konsantrasyonunda azalma şekillendiği ve bu azalmanın sebebini, yoğun oksidatif stres ürünlerinin üretiminin ADM yetersizliğine yol açmasına bağlamışlardır. Özellikle yeni doğanlarda oksidatif stres ürünleri fetal dönemden neonatal döneme geçiş sırasında yüksek oksijen tüketimine, düşük antioksidan seviyesine, beynin serbest radikalleri yok etmedeki yetersiz kabiliyetine ve serbest radikallere karşı artan hassasiyetine bağlı olarak merkezi sinir sistem dokularının zarar görmesine zemin hazırlayabileceği ifade edilmektedir (Ferriero 2004, Buonocore ve Groenendaal 2007, Ok ve ark 2021). Sunulan bu çalışmada sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum ADM konsantrasyonunda sağlıklı köpeklerle göre istatistiksel olarak farklılık ($p>0.05$) belirlenmedi (Çizelge 3.4). Diğer yandan, bu köpeklerin beyin omurilik sıvısı ADM konsantrasyonunun seruma göre daha yüksek olduğu görüldü (Çizelge 3.5, Grafik 3.1). Ancak, serum GFAP, NSE, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları ile beyin omurilik sıvı GFAP, NSE ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları arasında korelasyon saptanmadı (Çizelge 3.6). Serebrospinal sıvı ADM konsantrasyonunun serum ADM konsantrasyonuna göre yüksek olmasının nedeni, beyin doku hasarında enzimler ilk önce serebrospinal sıvıya salınması, daha sonra dolaşıma geçmesi ile ilgili olabilir. Bu yüzden, beyin hasarın belirlemek için serum yerine beyin omurilik sıvı ADM düzeyinin değerlendirilmesinin daha güvenilir ve diagnostik öneme sahip olduğunu düşünüyoruz (Çizelge 3.4, Grafik 3.1). Birçok araştırmacı (Somay ve ark 2007, Chen ve ark 2014, Zhang ve ark 2014, Whang ve ark 2014, Serrono-Ponz ve ark 2016) beyin hasarında serum ADM konsantrasyonunun arttığını, buna karşın bazı araştırmacılar (Ferriero 2004, Buonocore ve Groenendaal 2007, Ok ve ark 2022) ise serum ADM düzeyinin azaldığını ve bu azalmayı beyinde oluşan hipoksemiye bağlı oksidatif stres ürün salınımının ADM yetersizliğine bağlamışlardır. Sunulan bu çalışmada serum ADM konsantrasyonu normal sınırdan olsa bile, beyin omurilik sıvısı ADM konsantrasyonunun yüksek olmasının yukarıda bahsedilen araştırmacıların (Somay ve ark 2007, Chen ve ark 2014, Zhang ve ark 2014, Whang ve ark 2014, Serrono-Ponz ve ark 2016) bildirimleri ile paralellik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Activin A'nın, birçok merkezi sinir sistemi hastalığında nöronlar üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Florio ve ark 2007, Mukerji ve ark 2009). Hipoksik işemik ensefalopati gelişen neonatal bebeklerde kan, beyin omurilik sıvısı ve idrarda activin A düzeyinin önemli oranda arttığı tespit edilmiştir (Florio ve ark 2006). Activin A ve S100B'nin, neonatal hipoksik işemik ensefalopatinin erken tanısında oldukça faydalı bir biyobelirteç olduğu ifade edilmektedir (Lv ve ark 2015). Activin A'nın preterm bebeklerde hipoksiye bağlı beyinde oluşan hasarı önlemek için yüksek düzeyde salındığı ortaya konmuştur (Mukerji ve ark 2009). Activin A, neonatal hipoksik işemik ensefalopatinin teşhisi için %100 spesifite ve sensitivite sahip olan bir biyobelirteç olduğu saptanmıştır (Florio ve ark 2004). Ayrıca prematüre bebeklerde diğer beyin hasar belirteçleri ile birlikte ACTA, neonatal beyin hasar oluşum riskini erken belirlemede kullanılabilir faydalı bir belirteç olabileceği rapor edilmiştir (Metallinou ve ark 2021, El-Mazzahy ve ark 2022). Buna karşın, Ok ve ark (2022) hipoksik işemik ensefalopati perinatal buzağılarda serum ACTA konsantrasyonunda istatistiksel olarak sağlıklı buzağılara göre önemli azalma belirlemişlerdir. Düşük ACTA düzeyinde buzağılarda asfeksiye bağlı oluşan hipoksik ensefalopatide yoğun oluşan oksidatif stres ürünlerinin bu proteini tahrip etmesine bağlamışlardır. Sunulan bu çalışmada sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum ACTA konsantrasyonunda sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak farklılık ($p>0.05$) belirlenmedi (Çizelge 3.4). Aynı zamanda, bu köpeklerin beyin omurilik sıvısı ACTA düzeyinin (Çizelge 3.5, Grafik 3.1) serumda göre daha yüksek olduğu görüldü. Ancak, serum GFAP, NSE, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları ile beyin omurilik sıvı GFAP, NSE, ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları arasında korelasyon saptanmadı (Çizelge 3.6). Beyin omurilik sıvısı ACTA konsantrasyonunun serumda göre yüksek olmasının nedeni, beyin doku hasarında enzimlerin ilk önce serebrospinal sıvıya salındığı, daha sonra dolaşıma geçtiği ile ilgili olabilir. Sunulan bu araştırmada her ne kadar serumda ACTA konsantrasyonu normal sınırdan olsa bile, beyin omurilik sıvı ACTA konsantrasyonunun yüksek olması, Florio ve ark (2006)'nın sonuçları ile uyumluluk göstermiştir. Bu yüzden, beyin hasarını belirlemek için serumdan daha ziyade beyin omurilik sıvı ACTA düzeyinin değerlendirilmesinin daha güvenilir ve diagnostik öneme sahip olduğu düşünülmektedir (Çizelge 3.5 Grafik 3.1).

Kreatin kinaz-BB, nöron ve astrositlerde bulunan bir izoenzimdir. Kreatin kinaz-BB, glial hücreler arasında astrositlerden salınmaktadır (Tachikawa ve ark 2004). Kreatin kinaz-BB, beyinde yüksek miktarlarda bulunur, beyin hasarı veya bozukluklarında periferik kanda aktivitesi artar (Lyons ve Kettenmann 1998, Mitani ve ark 2000). Neonatal periyotta beyin hasarının teşhisinde S100B ile birlikte kullanılan bir biyobelirteçtir (Nagdyman ve ark 2001). Nörolojik bozukluk gelişen perinatal asfeksili bebeklerde, CK-BB enzim aktivitesinin önemli düzeyde artış gösterdiği ortaya konmuştur (Wals ve ark 1982). Şiddetli beyin hasarı gelişen bebeklerde, CK-BB enzim aktivitesinin 1-3 gün süreyle artış gösterdiği tespit edilmiştir (Becker ve ark 1978). Sweet ve ark (1999) perinatal asfeksili bebeklerde, kan CK-BB enzim aktivitesinin arttığını bildirmiştir. Buna karşın, Ok ve ark (2022) hipoksik işemik ensefalopatili perinatal buzağılarda serum CK-BB enzim aktivitesinin istatistiksel olarak sağlıklı buzağılara göre önemli düzeyde azaldığını ve bu azalmanın sebebini, buzağılarda asfeksiye bağlı oluşan hipoksemiye ilişkin yoğun oluşan oksidatif stres ürünlerinin bu proteini tahrip etmesine bağlamışlardır. İder ve ark (2023) hipoglisemik buzağıların CK-BB enzim aktivitesinin sağlıklı buzağılara kıyasla önemli oranda arttığını bildirmiş ve bu artışı beyin hasar gelişimine bağlamışlardır. Diğer yandan, beyin hasarında serum CK-BB enzim aktivitesi kısa sürede artış gösterip, daha sonra azaldığını rapor etmişlerdir (Becker ve ark 1978, Mitome-Mishima ve ark 2014). Deneysel olarak insülin ile indüklenen hipoglisemide CK-BB enzim aktivitesinin arttığı ve insülin dozuyla pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Mitani ve ark 2000). Hipoglisemi olgularında CK-BB enzim aktivitesindeki artış, CK'nın beyin enerji ihtiyacı ve ATP üretimi (beyin enerji homeostazisi) üzerindeki rolü ile ilişkilendirilmiştir (Jiang ve ark 1998, Tachikawa ve ark 2004, Koneshamoorthy ve ark 2022). Sunulan bu çalışmada sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerin serum CK-BB aktivitesinde sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak önemli artış ($p<0.00$) belirlendi (Çizelge 3.4). Aynı zamanda, bu köpeklerin beyin omurilik sıvısı CK-BB aktivitesi de yüksek bulundu (Çizelge 3.5, Grafik 3.1) ancak serum CK-BB konsantrasyonları ile GFAP, NSE ADM, ACTA, CK-BB, İgG ve İgM konsantrasyonları arasında korelasyon saptanmadı (Çizelge 3.6). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, birçok araştırmacının (Wals ve ark 1982, Fernandez ve ark 1987, Lyons ve Kettenmann 1998, Sweet ve ark 1999, Mitani ve ark 2000, İder ve ark 2023) sonuçları ile uyum göstermiş, buna karşın Ok ve ark (2022)'nin sonuçları ile uyumluluk göstermemiştir. Ok ve ark (2022) sonuçları ile uyumluluk

göstermemesinin muhtemel nedeni, bu köpeklerde merkezi sinir sistem hasarının hipoksemi kaynaklı olmaması olabilir.

Humoral bağışıklığın önemli bileşenlerinden biri olan İgM, B hücresinin gelişim sürecinde eksprese edilen ve bir antijen tehdidine karşı üretilmiş ilk immünglobulin olup, bakteriyel patojenlerin kana geçmesine karşı koruma görevini üstlenir. Serumda İgM'nin varlığı yakın zamanda enfeksiyon geçirildiğini gösterir (von Messling ve ark 1999, Cuesto ve ark 2004, Li ve ark 2020, Sathe ve Cusick 2022, Alfona ve ark 2022). Ensefalitli gençlik hastalıklı köpeklerde İgG düzeyinin hem serum hem de serobrospinal sıvıda önemli oranda arttığı belirlenmiştir (Jhonson ve ark 1988). Birçok araştırmacı (Çalışkan ve Burgu 2007, Esin 2013, McRee ve ark 2014) gençlik hastalıklı köpeklerde İgM ve İgG seropozitifliği tespit etmişlerdir. Her ne kadar gençlik hastalığına spesifik İgM saptanması enfeksiyonun akut fazda olduğunu (Waner ve ark 2003) gösterse de İgM konakçının immun durumuna ve virusun serotipine göre gençlik hastalıklı köpeklerde 5 hafta ile 3 ay seropozitifliğin devam ettiği gösterilmiştir (Appel ve Summers 1999). Saltık ve Kale (2020) köpek gençlik hastalığının akut fazında kanin distemper virusuna özgü İgM ve İgG seropozitifliğini, geç fazında ise İgG seropozitifliğini belirlemişler ve gençlik hastalığının erken teşhisinde bu immünglobulin düzeylerinin belirlenmesinin faydalı olabileceğini bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerin serum İgG ve İgM düzeyinde sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak önemli artış ($p<0.00$) belirlendi (Çizelge 3.4). Aynı zamanda, bu köpeklerin serebrospinal sıvısı İgG ve İgM düzeyleri de yüksek bulundu (Çizelge 3.5, Grafik 3.1) ancak serum GFAP, NSE ADM, ACTA, CK-B, İgG ve İgM konsantrasyonları ile beyin omurilik sıvısı GFAP, NSE ADM, ACTA, CK-B, İgG ve İgM konsantrasyonları arasında korelasyon saptanmadı (Çizelge 3.6). Birçok araştırmacının (Jhonson ve ark 1988, McRee ve ark 2014, Saltık ve Kale 2020, Sathe ve Cusick 2022) köpek gençlik hastalığın geç fazında serum İgG düzeyinde önemli artış gözlemlendiği bildirimine uyumlu olarak sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerin serum ve BOS İgG düzeyinde önemli artış belirlenmiştir. Sinirsel form geç fazda geliştiğinden antiviral antikor olarak İgG düzeyinin artması beklenen bir durumdur. Diğer yandan, pek çok araştırmacı (von Messling ve ark 1999, Cuesto ve ark 2004, Li ve ark 2020, Sathe ve Cusick 2022, Alfona ve ark 2022) serum İgM düzeyindeki artışın, hayvanın yakın dönemde enfeksiyon geçirdiğini işaret edebileceği bildirimi ile bizim sonuçlarımız paralellik göstermedi. Sunulan bu çalışmada geç fazda olan sinirsel formlu gençlik hastalıklı

köpeklerde serum ve serebrospinal sıvı İgM düzeyinde anlamlı artış gözlenmesinin muhtemel nedeni, her ne kadar gençlik hastalığına spesifik İgM saptanması enfeksiyonun akut fazda olduğunu (Waner ve ark 2003) gösterse de gençlik hastalıklı köpeklerde İgM seropozitifliğinin uzun süre devam ettiği düşüncesindeyiz. Zira Appel ve Summers (1999) konakçının immun durumuna ve virusun serotipine göre gençlik hastalıklı köpeklerde 5 hafta ile 3 ay seropozitifliğin devam ettiği bildirimini, bizim görüşümüzü desteklemektedir.

4.3. Hematolojik Bulgular

Gençlik hastalıklı köpeklerde çeşitli hematolojik anormallikler geliştiği belirlenmiştir (Shell 1990, Moritz ve ark 2000, Gebara ve ark 2004, Amude ve ark 2006). Gençlik hastalıklı köpeklerde en yaygın hematolojik bulguların; anemi ve lenfopeni olduğu bildirilmiştir (Tudury ve ark 1997). Özellikle RBC, MCV, MCHC, Hct ve Hb düzeylerinde azalma saptanmıştır (Ezeibe ve Udegbonom 2008, Buragohain ve ark 2017). Gençlik hastalığında anemi gelişimini, virusun kemik iliğinde eritroid hipoplazisi (Perret ve ark 2001, Headley ve ark 2009) veya CDV tarafından indüklenen proinflamatuvar sitokinleri demirin daha az metabolize edilebilir bir forma dönüştürmesi sonucu, demirin retikülosit yapımında kullanılamamasına bağlamışlardır (Manolov ve ark 2017). Gençlik hastalıklı köpeklerde mikrositik hipokromik anemi (Hb, PCV, MCV, MCHC azalma), trombositopeni ve lenfopeni geliştiği belirlenmiştir (Saaed ve Al-Obaidi 2021). Doro ve Amaral (2021) sinirsel gençlik hastalıklı köpeklerde RBC, Hb ve Hct değerlerinde herhangi bir değişim olmadığını bildirirken, Gülersoy ve ark (2022b) gençlik hastalıklı köpeklerde MCV, MCHC ve Hb düzeylerinin azaldığını tespit etmişler ve bu azalmanın nedenini demir eksikliği ile ilişkilendirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde RBC, MCV, MCHC ve Hb değerlerinde sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak önemli azalma ($p < 0,01$) belirlendi (Çizelge 3.3). Ancak RBC, MCV, MCHC ve Hb değerleri normal referans aralıkta olduğundan dolayı anemi olarak değerlendirilmedi. Bu çalışmanın sonuçları birçok araştırmacının (Perret ve ark 2001, Ezeibe ve Udegbonom 2008, Headley ve ark 2009, Buragohain ve ark 2017, Saaed ve Al-Obaidi 2021, Gülersoy ve ark (2022b) sonuçları uyum göstermezken, Doro ve Amaral (2021)'ın sonuçları ile uyum göstermiştir. Hastalığın akut formunda virüs kemik iliğine yerleşir, eritroid hipoplazi ve virus tarafından uyarılan

proinflamatuvar sitokinler, demiri daha az metabolize edilebilir bir forma dönüştürmesi sonucu demirin retikülosit yapımında kullanılmasını engelleyerek anemi oluşturur. Oysa subakut olan sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde virus yoğun olarak sinir sistemine yerleşir ve ensefalomiyelitis oluşturur. Kemik iliğinde virus yoğunluğu azalır ve eritroid dokuda hasarı pek fazla oluşmaz. Bu çalışmada anemi oluşmamasının bu durumla ilgili olabileceğini düşünüyoruz. Gençlik hastalıklı köpeklerde gözlenen hematolojik değişim lökosit panelinde olmaktadır. Hastalığın akut döneminde en dominant değişim lenfosit sayısındaki azalmadır (Tudury ve ark 1997, Ezeibe ve Udegbonom 2008, Saaed veAl-Obaidi 2021). Sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde WBC, LYM, MON ve GRA sayılarında herhangi bir değişiklik olmadığı rapor edilmiştir (Gülersoy ve ark 2022a, Gülersoy ve ark 2022b). Değirmençay (2023) gençlik hastalığının akut formunda WBC, nötrofil ve MON sayısında önemli azalma tespit etmiştir. Sunulan bu çalışmada ise gençlik hastalıklı köpeklerin WBC, LYM ve MON sayısında sağlıklı köpeklere göre istatistiksel olarak önemli artış ($p < 0.01$) belirlendi (Çizelge 3.3). Bu çalışmanın sonuçları birçok araştırmacının (Tudury ve ark 1997, Ezeibe ve Udegbonom 2008, Saaed veAl-Obaidi 2021, Değirmençay 2023) sonuçları ile uyumluluk göstermemiştir. Yukarıda bahsi geçen araştırmacılar, gençlik hastalığının akut formunda olan köpeklerin lökogramını değerlendirmişlerdir. Bu formda virus hem kemik iliğini hem de lenfoid dokuda yoğun bulunur, granülosit (nötrofil), monosit ve lenfositleri tahrip ederek lökopeniye neden olur. Sunulan bu çalışmada ise subakut evrede olan sinirsel formu gençlik hastalıklı köpeklerde lökogram değerlendirmesi yapılmıştır ve WBC, LYM ve MON sayısında artış belirlenmiştir. Subakut veya kronik dönemlerde kemik iliği ve lenfoid dokuda virüs yoğunluğu azalır ve immün direnç artar. WBC, LYM ve MON sayısındaki artışın muhtemel nedeni, subakut veya kronik viral enfeksiyonlara karşı hücresel yanıtın monosit ve lenfosit üzerinden verilmesi ile ilişkilendirilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Sunulan bu çalışma ile sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde sinir sistem hasarının belirlenmesinde beyin hasar biyobelirteçlerinden GFAP, NSE, ADM, ACTA ve CK-BB hem serum hem de serebrospinal sıvıda konsantrasyonları belirlendi.

- *Canine distemper virus* 'una karşı oluşan antikorlardan İgM ve İgG düzeyleri hem serum hem de BOS'da saptandı.

- Serum GFAP, NSE ve CK-BB konsantrasyonlarında artış, ADM ve ACTA düzeylerinde ise farklılık tespit edilmedi. Bunun yanı sıra, bu biyobelirteçler beyin omurilik sıvısında yüksek bulundu. Özellikle BOS ACTA ve ADM biyobelirteç konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu görüldü.

- Sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde sinir sistem hasarının tespit edilmesinde serum GFAP, NSE ve CK-BB biyobelirteçlerinin en güvenilir diyagnostik öneme sahip oldukları ortaya kondu.

- Sinir sistem hasarının belirlenmesinde ADM ve ACTA biyobelirteçleri değerlendirilecekse, serumdan daha ziyade beyin omurilik sıvısında ölçülmelerinin diyagnostik açıdan daha önemli olduğu düşünüldü.

- Sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerde kan gazlarında herhangi bir anormallik görülmedi.

- Sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerin hemogramlarında WBC, LYM ve MON sayısında önemli artış belirlendi.

- Hastalığın tanısı *canine distemper virus* antijen kiti ve PCR ile kondu.

Sonuç olarak sinirsel formlu gençlik hastalıklı köpeklerin serum NSE, GFAP, CK-B, İgM ve İgG konsantrasyonlarında önemli artış belirlendi. Beyin omurilik sıvı NSE, GFAP, CK-BB, İgM ve İgG konsantrasyonları ve özellikle ADM ve ACTA seviyesi seruma göre daha yüksekti. Sinir sistem hasarının belirlenmesinde NSE, GFAP ve CK-BB biyobelirteçlerinin kullanılabilir ve güvenilir diyagnostik değere sahip olduğu ortaya kondu.

Özellikle Veteriner hekimliği alanında henüz yeni sayılabilen beyin hasarı ile ilişkili bu belirteçlerin yaygın kullanımı için çeşitli sinir sistemi hastalıkları üzerine yapılacak yeni ve daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu kanısına varıldı.

6. KAYNAKLAR

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, 2022. Cellular and molecular immunology, 10. Baskı, Philadelphia Pennsylvania, Jeremy Bowes, 295.
- Afsari ZH, Renno WM, Abd-El-Basset E, 2008. Alteration of glial fibrillary acidic proteins immunoreactivity in astrocytes of the spinal cord diabetic rats. *Anat Rec (Hoboken)*. 291(4), 390-9.
- Ağaoğlu Z, Akgül Y, 1998. Enfeksiyöz Hastalıklar, Kedi ve Köpek Hastalıkları, Hüseyin Yılmaz İmren, 1. Baskı, Ankara Medisan, 368-70.
- Alfano F, Lanave G, Lucibelli MG, Miletto G, D'Alessio N, Gallo A, Auriemma C, Amoroso MG, Lucente MS, De Carlo E, Martella V, Decaro N, Fusco G, 2022. Canine distemper virus in autochthonous and imported dogs, Southern Italy (2014-2021). *Animals (Basel)*, 12(20), 2852.
- Amude AM, Alfieri AA, Alfieri AF, 2006. The nervous form of canine distemper. *Veterinária e Zootecnia* 13, 125–136.
- Amude AM, Alfieri AA, Alfieri AF, 2007. Clinicopathological findings in dogs with distemper encephalomyelitis presented without characteristic signs of the disease. *Res Vet Sci*, 82, 416–22.
- Appel MJ, Gillespie JH, 1972. Canine distemper virus. Springer-Verlag/Wien, 62-65.
- Appel MJG, Summers BA, 1999. Canine distemper: Current Status. Recent advances in canine infectious diseases. Erişim tarihi, 29 Temmuz 2023. Erişim adresi, <https://www.ivis.org/library/recent-advances-canine-infectious-diseases/canine-distemper-current-status>
- Appel MJG, Summers BA. 1999. Canine distemper: Current status. In: Carmichael LE, editor. Recent advances in canine infectious diseases. Ithaca, NY: International Veterinary Information Service, 5, 68-72.
- Athanasiou LV, Kantere MC, Kyriakis CS, Pardali D, Adamama Moraitou K, Polizopoulou ZS, 2018. Evaluation of a direct immunofluorescent assay and/or conjunctival cytology for detection of canine distemper virus antigen. *Viral immunology*, 31(3), 272-275.
- Aytuğ N, 2019. Köpek ve kedilerin iç hastalıkları. 3. baskı. Medipres matbaacılık ltd. şti. medipres, 444.
- Bakken IJ, White LR, Unsgård G, Aasly J, Sonnewald U, 1998. [U-13C] glutamate metabolism in astrocytes during hypoglycemia and hypoxia. *Journal of neuroscience research*, 51(5), 636–645.
- Becker M, Menzel K, 1978. Brain-typical creatine kinase in the serum of newborn infants with perinatal brain damage, *Acta Pediatr Scand*, 67, 177-180.
- Beineke A, Baumgartner W, Wohlsein P, 2015. Cross-species transmission of canine distemper virus – an update. *Bünteweg* 17, Hannover, 3.
- Beineke A, Puff C, Seehusen F, Baumgartner W, 2009. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Vet Immunol. Immunopathol*, 127(1-2), 1-18.
- Bennet L, Booth L, Gunn AJ, 2010. Potential biomarkers for hypoxic–ischemic encephalopathy. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 15, 253-260.
- Bersani I, Auriti C, Ronchetti MP, Prencipe G, Gazzolo D, Dotta A, 2015. Use of early biomarkers in neonatal brain damage and sepsis: state of the art and future perspectives, *BioMed research international*, 82(3), 416-22.
- Biomarker Definitions Working Group. 2001. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 69, 89–95.
- Blancou J, 2004. Dog distemper: imported into Europe from South America. *Hist Med Vet*, 29, 35-41.
- Buonocore G, Groenendaal F, 2007. Anti-oxidant strategies. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 12, 287–95.

- Buragohain M, Goswani S, Kalita DJ, 2017. Clinicopathological findings of canine distemper virus infection in dogs. *J Entomol Zool Stud* 5, 1817–1819.
- Caliskan E, Burgu I, 2007. Köpek gençlik hastalığı virusunun prevalansı ve seroepidemiolojisi [Canine distemper virüs prevalence and seroepidemiology]. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg.* 18(1-2), 5-10.
- Camargo Castillo MA, de Almeida BA, Okano FY, Menin A, Valle SF, 2019. Frequency of Lentz Bodies Inclusion in Whole Blood Erythrocytes and Expanded Buffy Coat Smears. *Acta Scientiae Veterinariae*, 47(1), 34-43.
- Chen TJ, Fu QY, Wu WQ, 2014. Plasma levels of adrenomedullin in patients with traumatic brain injury: potential contribution to prognosis. *Peptides*, 56, 146-150.
- Chludzinski E, Ciurkiewicz M, Stoff M, Klemens J, Krüger J, Shin DL, Beineke A, 2023. Canine Distemper Virus Alters Defense Responses in an Ex Vivo Model of Pulmonary Infection. *Viruses*, 15(4), 834.
- Conceicao C, Willet B, Bailey D, 2019. Examining receptor usage by the morbilliviruses: who, or what, is really at risk?". *Access Microbiol*, 1, 558-61.
- Cuesta A, Meseguer J, Esteban MA, 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 101(3-4), 203-10.
- Çalışkan E, 2007. Köpek gençlik hastalığı virus izolasyonu, H proteini kodlayan gen bölgesinin karakterizasyonu ve seroepidemiolojisi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çeltik C, Acunaş B, Öner N, Pala Ö, 2004. Neuron-specific enolase as a marker of the severity and outcome of hypoxic ischemic encephalopathy, *Brain and Development*, 26, 398-402.
- De Almeida DE, Roveratti C, Brito FL, Godoy GS, Duque JC, Bechara GH, Laus JL, 2009. Conjunctival effects of canine distemper virus-induced keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary ophthalmology*, 12(4), 211-215.
- Degene B, Zebene M, 2019. Canine distemper, a review. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*, 6(7), 15.
- Değirmençay Ş, 2023. Evaluation of the Effects of Ribavirin and Proanthocyanidin on the Clinical Outcome, Hematological and Biochemical Parameters, and Viral Shedding in Canine Distemper. *Türk Doğa ve Fen dergisi*, 12(1), 125-135.
- Değirmençay Ş, 2017. Kanin distemperin tedavisinde antiviral kullanımının klinik bulgular, hematolojik ve biyokimyasal parametreler ve viral saçılım üzerine etkilerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Di Iorio R, Marinoni E, Lituania M, Serra G, Letizia C, Cosmi EV, Gazzolo D, 2004. Adrenomedullin increases in term asphyxiated newborns developing intraventricular hemorrhage, *Clinical Biochemistry*, 37, 1112–16.
- Doğan Y, 2022. İmmünglobulin g'nin tayinine yönelik afinite temelli biyosensör geliştirilmesi. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Doro SCOL, Amaral AVC. 2021. Clinical and hematological evaluation in dogs with myoclonus derived from canine distemper supplemented with vitamin D3. *Research, Society and Development*, 10(3), 1-12.
- Douglas-Escobar MV, Heaton SC, Bennett J, Young LJ, Glushakova O, Xu X, Barbeau DY, Rossignol C, Miller C, Old Crow AM, Hayes RL, Weiss MD, 2014. UCH-L1 and GFAP Serum Levels in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Single Center Pilot Study, *Front Neurol*, 5, 273-278.
- Douglas-Escobar MV, Weiss MD, 2013. Biomarkers of brain injury in the premature infant, *Frontiers in neurology*, 3, 185-193.
- Durgut MK, Ok M, 2022. Enterokolitislerde bağırsak biyobelirteçlerinin teşhisteki önemi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci.* 13(1), 11-19

- Duque-Valencia J, Sarute N, Olarte-Castillo XA, Ruíz-Sáenz J, 2019. Evolution and Interspecies Transmission of Canine Distemper Virus—An Outlook of the Diverse Evolutionary Landscapes of a Multi-Host Virus. *Viruses*,11,(7), 582.
- Ek-Kommonen C, Sihvonen L, Pekkanen K, Rikula U, Nuotio L, 1997. Outbreak of canine distemper in vaccinated dogs in Finland. *Vet Rec Open*, 141, 380–83.
- El Mazzahy EA, Iskander IF, Abouyoussef HH, Madani HA, El Tatty SS, 2022. Activin a is not a reliable prognostic biomarker for bilirubin induced neurotoxicity in neonates. *PSJ*, 2, 139-46.
- Elia G, Camero M, Losurdo M, Lucente MS, Larocca V, Martella V, Decaro N, Buonavoglia C, 2015. Virological and serological findings in dogs with naturally occurring distemper. *Journal of virological methods*, 213, 127-130.
- Elia G, Decaro N, Martella V, Cirone F, Lucente MT, Lorusso E, Di Trani L, Buonavoglia C, 2006. Detection of canine distemper virus in dogs by real-time RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 136, 171–176.
- Elmazzahy EA, Iskander IF, Abouyoussef HH, Madani HA, El Tatawy SS, 2022. Activin A is Not a Reliable Prognostic Biomarker For Bilirubin Induced Neurotoxicity in Neonates. *Pediatric Sciences Journal*, 2(2), 139-146.
- Ennen CS, Huisman TA, Savage WJ, Northington FJ, Jennings JM, Everett AD, Graham EM, 2011. Glial fibrillary acidic protein as a biomarker for neonatal hypoxicischemic encephalopathy treated with whole-body cooling, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 205, 251–57.
- Esin E, 2013. Köpeklerde canine distemper virus enfeksiyonunun araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Ezeibe MCO, Udegbunam RI, 2008. Haematology of dogs infected with canine distemper virus. *Sokoto J Vet Sci* 7, 31–33.
- Fenner F, Bachmann PA, Gibbs EPJ, Murphy FA, Studdert MJ, White DO, 1987. Classification and Nomenclature of Viruses. *Veterinary Virology*, 6, 21–38.
- Fernandez F, Verdu A, Quero J, Perez-Higueras A, 1987. Serum CPK-BB isoenzyme in the assessment of brain damage in asphyctic term infants, *Acta Paediatrica Scandinavica*, 76, 914–918.
- Ferriero DM, 2004. Neonatal brain injury. *N Engl J Med*. 351, 1985–95.
- Florio P, Abella Raul 2, Marinoni E, Di Iorio R, Li Volti G, Galvano F, Pongiglione G, Frigiola A, Pinzauti S, Petraglia F, Gazzolo D, 2010. Biochemical markers of perinatal brain damage, *Front Biosci (Schol Ed)*, 2, 47-72.
- Florio P, Gazzolo D, Luisi S, Petraglia F, 2007. Activin A in brain injury. *Adv Clin Chem*. 43, 117–130.
- Florio P, Luisi S, Bruschettini M, Grutzfeld D, Dobrzanska A, Bruschettini P, Petraglia F, Gazzolo D, 2004. Cerebrospinal fluid activin A measurement in asphyxiated full-term newborns predicts hypoxic ischemic encephalopathy, *Clin Chem*, 50, 2386–89.
- Florio P, Perrone S, Luisi S, Vezzosi P, Longini M, Marzocchi B, Petraglia F, Buonocore G, 2006. Increased plasma concentrations of activin a predict intraventricular hemorrhage in preterm newborns, *Clinical Chemistry*, 52, 1516– 21.
- Galán A, Gamito A, Carletti BE, Guisado A, de las Mulas JM, Pérez J, Martín EM, 2014. Uncommon acute neurologic presentation of canine distemper in 4 adult dogs. *Can Vet J*, 55(4), 373–378.
- Gazzolo D, Abella R, Marinoni E, Di Iorio R, Li Volti G, Galvano F, Sabatini M, 2009. “New markers of neonatal neurology, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 22(sup3), 57-61.
- Gebara CMS, Wosiacki SR, Negrão FJ, De Oliveira DB, Beloni SNE, Alfieri AA, Alfieri AF, 2004. Detecção do gene da nucleoproteína do vírus da cinomose canina por RT-PCR em urina de cães com sinais clínicos de cinomose. *Arq Bras Med Vet Zootec* 56, 480–87.

- Gülersoy E, Kapar MM, Durgut MK, Naseri A, Ok, M, 2022a. Evaluation of clinical, hematochemical and cerebrospinal fluid analysis findings in dogs naturally affected by the neurological form of canine distemper. *Magyar Allotorvosok Lapja*, 144, 13-29.
- Gülersoy E, Balıkçı C, Günel İ, Şahan A, 2022b. Evaluation of the Efficacy of Blood Gases and Hemogram Parameters in the Diagnosis of non Neurogenic Distemper and Parvoviral Enteritis in Dogs with Acute Gastroenteritis. *Revista Cientifica*, e32091, 1-8.
- Gülersoy E, Ok M, Sevinç M, Durgut MK, Naseri A, 2020a. A case of a 13-year-old dog with old dog encephalitis: a rare form of canine distemper. *Kocatepe Vet J*, 13 (2), 1-4.
- Gulersoy E, Ok M, Yildiz R, Koral E, Ider M, Sevinc M, Zhunushova A, 2020b. Assessment of intestinal and cardiac-related biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Polish J Vet*, 23, 2, 211-219.
- Hashish HA, 2015. Alteration of glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in astrocytes of the cerebellum of diabetic rats and potential effect of insulin and ginger. *Anat Physiol*, 5(1), 2161-0940.
- Hasircioğlu S, Aslım HP, 2021. Detection of Canine Distemper Virus from Ocular Swab and Blood Samples in Dog by Real-Time RT-PCR Method. *Kocatepe Vet J*, 14 (4), 415-421.
- Headley SA, Koljonen M, Gomes LA, Sukura A, 2009. Central primitive neuroectodermal tumour with ependymal differentiation in a dog. *J Comp Pathol* 140, 80-83.
- Ider M, Nasari A, Ok M, Ertürk A, Durgut MK, İyigün SS, 2023. Surveilling brain damage using brain biomarkers in hypoglycemic neonatal calves with diarrhea. *Front. Vet. Sci.* 10, 1240846.
- Jhonson, GC, Fenner WR, Krakowka S, 1988. Production of immunoglobulin G and increased antiviral antibody in cerebrospinal fluid of dogs with delayed-onset canine distemper viral encephalitis. *J Neuroimmunology*. 17, 237-51.
- Jiang Y, Jia S, Zheng D, Li F, Wang S, Wang L, 2019. Protective Immunity against Canine Distemper Virus in Dogs Induced by Intranasal Immunization with a Recombinant Probiotic Expressing the Viral H Protein. *Vaccines (Basel)*, 7, 213.
- Jiang ZL, Harada T, Yokokawa M, Kohzuki M, Sato T. 1998. Muscle damage induced by experimental hypoglycemia. *Metabolism*. 47(12), 1472-6.
- Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV, 2006. Anti-inflammatory activity of immunoglobulin G resulting from Fc sialylation. *Science*, 313(5787), 670-73.
- Kapil S, Yearly TJ, 2011. Canine distemper spillover in domestic dogs from urban wildlife. *Vet Clin Small Anim*, 41, 1069-1086.
- Kapural M, Krizanac-Bengez Lj, Barnett G, Perl J, Masaryk T, Apollo D, Rasmussen P, Mayberg MR, Janigro D, 2002. Serum S-100 β as a possible marker of blood-brain barrier disruption. *Brain Res* 940, 102-104.
- Karki M, Rajak KK, Singh RP, 2022. Canine morbillivirus (CDV): A review on current status, emergence and the diagnostics. *Virus disease*, 33(3), 309-321.
- Kawata K, Liu CY, Merkel SF, Ramirez SH, Tierney RT, Langford D, 2016. Blood biomarkers for brain injury: what are we measuring? *Neurosci Biobehav Rev*, 68, 460-73.
- Kim D, Jeoung SY, Ahn SJ, Lee JH, Pak SI, Kwon HM, 2006. Comparison of tissue and fluid samples for the early detection of canine distemper virus in experimentally infected dogs. *J Vet Sci*, 68, 877-79.
- Kim YG, Cho KW, Youn HY, Yoo HS, Han HR, 2001. Detection of canine distemper virus (CDV) through one step RT-PCR combined with nested PCR. *J Vet Sci*, 2(1), 59-63.
- Koneshamoorthy A, Seniveratne-Epa D, Calder G, Sawyer M, Kay TWH, Farrell S, Loudovaris T, Mariana L, McCarthy D, Lyu R, Liu X, Thorn P, Tong J, Chin LK, Zacharin M, Trainer A, Taylor S, MacIsaac RJ, Sachithanandan N, Thomas HE, Krishnamurthy B, 2022. Case Report: Hypoglycemia Due to a Novel Activating Glucokinase Variant in an Adult -a Molecular Approach. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 13, 842937.

- Lempp C, Spitzbarth I, Puff C, Cana A, Kegler K, Techangamsuwan S, Baumgärtner W, Seehusen F, 2014. New aspects of the pathogenesis of canine distemper leukoencephalitis. *Viruses*, 6(7), 2571.
- Li Y, Wang G, Li N, Wang Y, Zhu Q, Chu H, Wu W, Tan Y, Yu F, Su XD, Gao N, Xiao J, 2020. Structural insights into immunoglobulin M. *Science*, 367(6481), 1014-17.
- Li FJ, Zheng SR, Wang DM, 2020. Adrenomedullin: an important participant in neurological diseases. *Neural Regen. Res*, 15(7), 1199-07.
- Liu CY, Dong WB, Chen Y, 2005. The relationship between serum neuron specific and neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Chinese J Birth Health & Heredity*, 13, 85-6.
- Lv H, Wang Q, Wu S, Yang L, Ren P, Yang Y, Gao J, Li L, 2015. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy-related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid. *Clinica Chimica Acta*, 450, 282-97.
- Lyons SA, Kettenmann H, 1998. Oligodendrocytes and microglia are selectively vulnerable to combined hypoxia and hypoglycemia injury in vitro. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 18, 521-530.
- Mahmoodazdeh A, Shafiee SM, Sisakht M, Khoshdel Z, Takhshid MA, 2020. Adrenomedullin protects rat dorsal root ganglion neurons against doxorubicin-induced toxicity by ameliorating oxidative stress. *Iran J Basic Med Sci.* 23(9), 1197-1206.
- Manolov V, Hadjidekova S, Petrova J, Vasilev V, Petrova M, Traykov L, Bogov I, 2017. The role of iron homeostasis in alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*, 3, 1-4.
- Marchi N, Cavaglia M, Fazio V, Bhudia S, Hallene K, Janigro D, 2004. Peripheral markers of blood-brain barrier damage. *Clin Chim Acta*, 342, 1-12.
- Martella V, Elia G, Buonavoglia C, 2008. Canine distemper virus. Elsevier Saunders, *Vet Clin Small Anim*, 38, 792-793.
- Martinez-Gutierrez M, Ruiz-Saenz J, 2016. Diversity of susceptible hosts in canine distemper virus infection: a systematic review and data synthesis. *BMC Veterinary Research*, 12,72, 1-15.
- Massaro AN, Chang T, Kadom N, Tsuchida T, Scafidi J, Glass P, McCarter R, Baumgart S, Vezina G, Nelson KB, 2012. Biomarkers of brain injury in neonatal encephalopathy treated with hypothermia, *Journal of Pediatrics*, 161, 434-440.
- McDermott I, Gilbert M, Shah MK, Sadaula A, Anderson NE, 2023. Seroprevalence of canine distemper virus(CDV) in the free-roaming dog *Canis familiaris*) population surrounding Chitwan National Park, Nepal. *Plos One*, 18 (2), 1-17.
- McRee A, Wilkes RP, Dawson J, Parry R, Foggin C, Adams H, Kennedy MA, 2014. Serological detection of infection with canine distemper virus, canine parvovirus and canine adenovirus in communal dogs from Zimbabwe. *J S Afr Vet Assoc.* 85(1), 1110.
- Metallinou D, Karampas G, Lazarou E, Iacovidou N, Pervanidou P, Lykeridou K, Mastorakos G, Rizos D, 2021. Serum activin a as brain injury biomarker in the first three days of life. a prospective case-control longitudinal study in human premature neonates. *Brain Sci*, 20,11, 1243.
- Mitani S, Okumura K, Matsui H, Toki Y, Hashimoto H, Ito T, Hayakawa T, 2000. Insulin alters cardiac muscle creatine kinase activity. *Heart and Vessels*, 15(1), 23-29.
- Mitome-Mishima Y, Miyamoto N, Tanaka R, Shimosawa T, Oishi H, Arai H, Hattori N, Urabe T, 2014. Adrenomedullin deficiency and aging exacerbate ischemic white matter injury after prolonged cerebral hypoperfusion in mice. *Biomed Res. Int.* 2014, 861632.
- Mohammed HA, Ajaj EA, Gharban HAJ, 2022. The first study on confirmation and risk factors of acute and chronic canine distemper in stray dogs in Wasit Province, Iraq, using enzyme-linked immunosorbent assay and reverse transcription-polymerase chain reaction. *Veterinary World*, 15(4), 968-974.
- Moritz A, Frisk AL, Baumgärtner W, 2000. The evaluation of diagnostic procedures for the detection of canine distemper virus infection. *Eur J Companion Anim Pract*, 10, 38-47.

- Mukerji SS, Katsman EA, Wilber C, Haner NA, Selman WR, Hall AK, 2007. Activin is a neuronal survival factor that is rapidly increased after transient cerebral ischemia and hypoxia in mice, *J. Cereb. Blood Flow Metab*, 27, 1161-72.
- Mukerji SS, Rainey RN, Rhodes JL, Hall AK, 2009. Delayed activin A administration attenuates tissue death after transient focal cerebral ischemia and is associated with decreased stress-responsive kinase activation. *J Neurochem*. 111(5), 1138-1148.
- Murphy FA, Gibbs EP, Horzinek M, Studdert MJ, 1999. *Veterinary virology*. 3.baskı, Academic pres., Elsevier, 423-425.
- Nagdyman N, Kömen W, Ko HK, Müller C, Obladen M, 2001. Early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy after birth asphyxia, *Pediatrc Res*, 49, 502-6.
- Noorishakdam M, Savabieh S, Sahirifi ME, 2020. Biomarkers of hypoxic-ischemia encephalopathy in newborns. *World J. Peri Neonatol*, 3, 28-36.
- Norris JM, Krockenberger MB, Baird AA, Knudsen G, 2006. Canine distemper: re-emergence of an old enemy. *Aust Vet J* 84, 362–363.
- Ok M, Naseri A, Ates MB, Ider M, Uney K, Sevinc M, Hatipoğlu F, Yıldız R, Ertürk A, Başpınar N, İyigün SS, 2022. The Usefulness of Serum Brain Damage Biomarkers in Detection and Evaluation of Hypoxic Ischemic Encephalopathy in Calves with Perinatal Asphyxia. *Animals (Basel)*, 12(22), 3223.
- Ok M, Yıldız R, Traş B, Başpınar N, Akar A, 2021. Oxidative Stress and Acute Phase Response Status during treatment in premature calves with respiratory distress syndrome. *J Hellenic Vet Med Soc*, 72 (3) 3246-3256.
- Ok M, Yıldız R, Hatipoğlu F, Başpınar N, İder M, Üney K, Ertürk A, Durgut MK, Terzi F, 2020a. Use of intestine- relate biomarkers for detecting intestinal epithelial damage in neonatal calves with diarrhea”, *American Journal Veterinary Research*, 81, 2, 139-46.
- Ok M, Yıldız R, Traş B, Başpınar N, Akar A, 2020b. Effect of nebulized formeterol, ipratropium bromid, and furosemid in combination combination with fluticasone propionate on arterial blood gases premature calves with respiratory distress syndrome. *J Hellenic Vet Med Soc*, 71, (1), 2011-18.
- Ok M, 2005. *Veteriner Nöroloji*, Konya, Selçuk Üniversitesi Basım evi, 76-82.
- O'Sullivan MP, Denihan N, Sikora K, Finder M, Ahearne C, Clarke G, Hallberg B, Boylan GB, Murray DM, 2021. Activin A and Acvr2b mRNA from Umbilical Cord Blood Are Not Reliable Markers of Mild or Moderate Neonatal Hypoxic–Ischemic Encephalopathy. *Neuropediatrics*, 52(04), 261-267.
- O'Sullivan MP, Denihan N, Sikora K, Finder M, Ahearne C, Clarke G, Hallberg B, Boylan GB, Murray DM, 2021. Activin A and Acvr2b mRNA from umbilical cord blood are not reliable markers of mild or moderate neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neuropediatrics*, 52, 261-7.
- Palmer C, Roberts RL, Young PI, 2004. Timing of neutrophil depletion influences long-term neuroprotection in neonatal rat hypoxic-ischemic brain injury, *Pediatr Res*, 55, 549–56.
- Pardo IDR, Johnson GC, Kleiboeker SB, 2005. Phylogenetic characterization of canine distemper viruses detected in naturally infected dogs in North America. *J. Clin. Microbiol*, 43, 5009–5017.
- Parija SC, 2012. *Textbook of microbiology& immunology*, 2.Baskı, Manesar, EIH Unit Ltd, Elsevier, 96-9.
- Perret D, Trumel C, Diquélou A, Dossin O, Guelfi JF, Espie C, 2001. L'indice de distribution des globules rouges (IDR) chez le chien. Analyse de 1400 cas. *Rev Med Vet* 152, 549–554.
- Phalman S, Esscher T, Bergvall P, Odelstad L, 1984. Purification and characterization of human neuron-specific enolase: radioimmunoassay development, *Tumour Biology*, 5, 127–39.
- Pratakipiriya W, Teh APP, Radtanakatakanon A, Pirarat N, Lan NT, Takeda M, Techangamsuwan S, Yamaguchi R, 2017. Expression of canine distemper virus receptor nectin-4 in the central nervous system of dogs. *Scientific Reports*, 7,349, 1-9.

- Rendon-Marin S, Budaszewski RF, Canal CW, Ruiz-Saenz J, 2019. Tropism and molecular pathogenesis of canine distemper virus. *Virus Journal*, 16, 1-15.
- Rikula UK, 2008. Canine distemper in Finland-vaccination and epidemiology. Academic Disertation University of Helsinki, Finland, 11-14.
- Ringger N, Giguere S, Morresey PR, Yang C, Shaw G, 2011. Biomarkers of brain injury in foals with hypoxic-ischemic encephalopathy, *Journal of veterinary internal medicine*, 25, 132-37.
- Roka A, Kelen D, Halasz J, Beko G, Azzopardi D, Szabo M, 2012. Serum S100B and neuron-specific enolase levels in normothermic and hypothermic infants after perinatal asphyxia, *Acta Paediatrica*, 101, 319-23.
- Ruht VJ, 1989. Prognostic value of creatine kinase-BB-isoenzyme in high risk newborn infants, *Archives of Disease in Childhood*, 64, 563-568.
- Saaed MM, Al-Obaidi QT, 2021. Clinical, Hematological and Some Biochemical Changes In Dogs Infected With Canine Distemper. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 4(5), 26-33.
- Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, Ali S, Sahin N, Gencoglu H, Ozkan Y, Hayirli A, Gozel N, Komorowski JR, 2013. Chromium modulates expressions of neuronal plasticity markers and glial fibrillary acidic proteins in hypoglycemia-induced brain injury. *Life Sci*. 93(25-26), 1039-48.
- Salinas-Carmona MC, Pérez-Rivera I, 2004. Humoral immunity through immunoglobulin M protects mice from an experimental actinomycetoma infection by *Nocardia brasiliensis*. *Infection and immunity*, 72(10), 5597-5604.
- Saltık HS, 2018. Klinik semptomlu köpeklerin kan, idrar, rektal sürüntü, nasal ve oküler akıntı örneklerinde canine distemper virus enfeksiyonun real-time RT-PCR ile tespit edilmesi. Doktora Tezi, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur.
- Saltık HS, Kale M, 2020. Evaluation of infection with N protein-specific immunoglobulin M and G in natural occurring distemper in dogs. *Veterinari Medicina*, 65, 168-173.
- Saltık HS, Kale M, 2023. Rapid molecular detection and isolation of canine distemper virus in naturally infected dogs. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 70(1), 49-56.
- Sathe A, Cusick JK, 2021. Biochemistry, immunoglobulin M. In StatPearls; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA, Erişim tarihi: 29.08.2023, Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555995/>
- Sathe A, Cusick JK, 2022. Biochemistry, Immunoglobulin M. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Sato H, Yoneda M, Honda T, Kai C, 2012. Morbillivirus receptors and tropism: multiple pathways for infection. *Frontiers in microbiology*, 3, 75, 2.
- Schroeder Jr HW, Wald D, Greenspan NS, 2013. Immunoglobulins and B-lymphocytes, In: *Fundamental immunology*, Eds: Paul WE, 7. Baskı, Philadelphia, LWW, 142-144.
- Schroeder Jr HW, Cavacini L, 2010. Structure and function of immunoglobulins. *Journal of allergy and clinical immunology*, 125(2), 41-52.
- Serrano J, Alonso D, Fernández AP, Encinas JM, López JC, 2002. Adrenomedullin in the central nervous system. *Microsc Res Tech*. 57(2), 76-90.
- Serrano-Ponz M, Rodrigo-Gasque C, Siles E, Martinez-Lara E, Ochoa-Callejero L, Martinez A, 2016. Temporal profiles of blood pressure, circulating nitric oxide, and adrenomedullin as predictors of clinical outcome in acute ischemic stroke patients. *Mol Med Rep* 13:3724-3734.
- Serrano-Ponz M, Rodrigo-Gasqué C, Siles E, Martínez-Lara E, Ochoa-Callejero L, Martínez A, 2016. Temporal profiles of blood pressure, circulating nitric oxide, and adrenomedullin as predictors of clinical outcome in acute ischemic stroke patients. *Molecular Medicine Reports*, 13, 3724- 3734.
- Shabbir MZ, Rabbani M, Ahmad A, Ahmed A, Muhammad K, Anwar I, 2011. Comparative evaluation of clinical samples from naturally infected dogs for early detection of canine distemper virus. *Turk J Vet Anim Sci* 34, 547–552.

- Shell LG, 1990. Canine distemper. *Comp Cont Educ Pract* 12, 173– 179.
- Sherding RG, 1994. Canine distemper. *Saunders's Manual of Small Animal Practice*. Saunders, Philadelphia, 107-109.
- Shin YJ, Cho KO, Cho HS, Kang SK, Kim HJ, Kim YH, Park HS, Park NY, 2004. Comparison of one-step RT-PCR and a nested PCR for the detection of canine distemper virus in clinical samples. *Aust Vet J.* 82(1-2), 83-6.
- Siman R, Toraskar N, Dang A, McNeil E, McGarvey M, Plaum J, Maloney E, Grady MS, 2009. A panel of neuron-enriched proteins as markers for traumatic brain injury in humans. *J Neurotrauma*, 26, 1867–77.
- Somay G, Halac GU, Uslu E, Aydin S, 2007. Plasma adrenomedullin in acute ischemic stroke. *Neurosciences (Riyadh)*, 12, 351-353.
- Sweet DG, Bell AH, McClure G, Wallace IJ, Shields MD, 1999. Comparison between creatine kinase brain isoenzyme (CKBB) activity and Sarnat score for prediction of adverse outcome following perinatal asphyxia. *J. Perinat. Med*, 27, 478-483.
- Sykes JE, 2014. Canine distemper virus infection, In: *Canine and feline infectious diseases*, Eds: Sykes JE, 1.baskı, St. Louis: Missouri, Elsevier Saunders, 152-163.
- Şen İ, 1998. Köpek gençlik hastalığının teşhisinde klinik ve laboratuvar bulgularının diagnostik önemi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Tachikawa M, Fukaya M, Terasaki T, Ohtsuki S, Watanabe M, 2004. Distinct cellular expressions of creatine synthetic enzyme GAMT and creatine kinases uCK-Mi and CK-B suggest a novel neuron–glial relationship for brain energy homeostasis. *European Journal of Neuroscience*, 20, 144-160.
- Takeda K, Akira S, 2004. "TLR signaling pathways". *Semin Immunol*, Academic Press, 16, 3-9.
- Tariq A, Shahzad A, Tahira S, 2013. Clinical aspects of canine distemper in 1,5 year old labrador retriever. *Research Journal for Veterinary Practitioners*, 1(2), 20-22.
- Tekkeşin F, İskender D, Gürkaş E, Devrim İ, Tezcan İ, Kara A, 2008. Selektif IgM eksikliği olan adolesan kız hastada ağır (komplike) suçiçeği enfeksiyonu: Bir vaka takdimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 51(4), 213.
- Tizard IR, 2017. *Veterinary immunology*, 10. Baskı, Riverport Lane, St. Louis, Missouri, Elsevier Inc, 479-482.
- Tomita N, Nakamura T, Sunden Y, Morita T, 2020. Histopathological and Immunohistochemical analysis of the cerebral white Matter after transient hypoglycemia in rat. *J Vet Med Sci*, 82, 68–76.
- Tozato CC, Zadra VF, Basso CR, Araújo Junior JP, 2016. Canine distemper virus detection by different methods of One-Step RT-qPCR. *Ciência Rural*, 46, 1601–1606.
- Trogu T, Canziani S, Salvato S, Bianchi A, Bertoletti I, Rita Gibelli L, Alborali GL, Barbieri I, Gaffuri A, Sala G, Sozzi E, Lelli D, Lavazza A, Moreno A. 2021. Canine distemper outbreaks in wild carnivores in Northern Italy. *Viruses*, 13 (1), 99-112.
- Tudury EA, Arias MVB, Bracarense APFL, Megid J, Dias Júnior RF, 1997. Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa. *Ciência Rural* 27, 229–235.
- Turgut K, Ok M, 2001. Kedi ve köpek gastroenterolojisi. *Bahçıvanlar Basımevi*. Konya, 324-333.
- Tuzcu N, Tuzcu M, Akçakavak G, Başbuğ O, Kurul M, 2021. Köpeklerde canine distemper virüs enfeksiyonunun klinik, patolojik ve real- time RT-PCR ile teşhisi. *J Adv VetBio Sci Tech*, 6(2), 3.
- Uhl EW, Kelderhouse C, Buikstra J, Blick JP, Bolon B, Hogan RJ, 2019. New world origin of canine distemper: Interdisciplinary insights. *Int J Paleopathol*, 24, 266-268.
- Uhl EW, Kelderhouse C, Buikstrac J, Blickd JP, Bolond B, Hogane JR, 2014. New world origin of canine distemper: Interdisciplinary insights. *International Journal of Paleopathology* 24, 266–78.

- Von Messling V, Harder TC, Moenning V, Rautenberg P, Nolte I, Haas L, 1999. Rapid and Sensitive Detection of Immunoglobulin M (IgM) and IgG Antibodies against Canine Distemper Virus by a New Recombinant Nucleocapsid Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol*, 37(4), 1049-1056.
- Vural SA, Alcığır ME, 2010. Distemper virus-induced apoptotic changes in cerebellum. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 57, 83-86.
- Walsh P, Jedeikin R, Ellis G, Primhak R, Makale SK, 1982. Assessment of neurologic outcome in asphyxiated term infant by use of serial CK-BB isoenzyme measurement. *J Pediatr*, 101, 988-92.
- Waner T, Mazar S, Nachmias E, Keren-Kornblatt E, Harrus S, 2003. Evaluation of a dot ELISA kit for measuring immunoglobulin M antibodies to canine parvovirus and distemper virus. *Vet Rec*, 152(19), 588-91.
- Wang CL, Lin HY, Xu JW, Jiang FF, Yang M, Wang JH, Huang XQ, 2014. Blood levels of adrenomedullin on admission predict outcomes after acute intracerebral hemorrhage. *Peptides* 54, 27-32.
- Wilkinson KD, Lee KM, Deshpande S, Duerksen-Hughes P, Boss JM, Pohl J, 1989. The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase, *Science*, 246, 670-73.
- Woma TY, 2008. The isolation and genetic characterization of canine distemper viruses from domestic dogs (*canis familiaris*) in south africa. University of Pretoria South Africa, Faculty of Veterinary Science, Thesis for Magister Scientiae, 24.
- Wyllie SE, Kelman M, Ward MP, 2016. Epidemiology and clinical presentation of canine distemper disease in dogs and ferrets in Australia, 2006-2014. *Aus Vet J*, 94, 215-222.
- Yağcı AA, 2017. Köpeklerde distemper hastalığının d-dimer düzeyleri ve koagülasyon profilleri üzerine etkileri. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Yang Z, Xu H, Sura L, Arja RD, Patterson RL, Rossignol C, Albayram M, Rajderkar D, Ghosh S, Wang K, Weiss MD, 2023. Combined GFAP, NFL, Tau, and UCH-L1 panel increases prediction of outcomes in neonatal encephalopathy. *Pediatr Res*, 93(5), 1199-1207.
- Yarım GF, Yağcı BB, 2006. Köpek gençlik hastalığının sinirsel formundaki köpeklerin plazmasında vitamin A ve beta-karotin düzeylerindeki değişiklikler, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 53, 85-86.
- Yılmaz N, Akgül Y, 2014. İmmünglobulinler ve sepsisemi. *Uludağ Üni Vet Fak Derg*, 33(1-2), 33-42.
- Yndestad A, Ueland T, Øie E, Florholmen G, Halvorsen B, Attramadal H, Simonsen S, Frøland SS, Gullestad L, Christensen G, Damås JK, 2004. Elevated levels of activating A in heart failure: potential role in myocardial remodeling, *Circulation*, 109, 1379-85.
- Zhang H, Tang B, Yin CG, Chen Y, Meng QL, Jiang L, Wang WP, Niu GZ, 2014. Plasma adrenomedullin levels are associated with longterm outcomes of acute ischemic stroke. *Peptides*, 52, 44-48.

7. EKLER

EK-A: Etik Kurul Kararı

EK-B: Turnitin Raporu

SİNİRSEL FORMLU GENÇLİK HASTALIKLI KÖPEKLERDE SİNİR SİSTEMİNDE OLUŞAN HASARIN BELİRLENMESİNDE SEÇİLMİŞ BEYİN HASAR BİYOBELİRTEÇLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 11	% 10	% 4	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 4
2	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
3	acikerisim.selcuk.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	dspace.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	acikerisim.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
6	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
7	Submitted to Mehmet Akif Ersoy Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
8	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1

Submitted to Erciyes Üniversitesi

9	Öğrenci Ödevi	<% 1
10	Cihan, Huseyin. "Türkiye'deki Tutsak Ayıların Sağlık Durumlarının Klinik ve Laboratuvar Bulguları Temelinde Değerlendirilmesi", Bursa Uludağ University (Turkey), 2021 Yayın	<% 1
11	www.mdpi.com İnternet Kaynağı	<% 1
12	www.ozguryayinlari.com İnternet Kaynağı	<% 1
13	www.turkiyeklinikleri.com İnternet Kaynağı	<% 1
14	veterinermedikalpark.com İnternet Kaynağı	<% 1
15	www.frontiersin.org İnternet Kaynağı	<% 1
16	Albayrak, Ömercan. "Safralı Kanalı Bağlama Yöntemi İle Oluşturulan Karaciğer Fibrozuna ve Beyin Hasarına Karşı Küsküt (Cuscuta Sp.) Bitkisinin Etkinliğinin Araştırılması", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023 Yayın	<% 1
17	cyberleninka.org İnternet Kaynağı	<% 1

18	Yaman, Meral. "Farklı Isılarda dDepolanmış Tavsan Kulak Kikirdak Greftlerinde Canlılığın Histolojik İncelenmesi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2021 Yayın	<% 1
19	doczz.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
20	issuu.com İnternet Kaynağı	<% 1
21	sporbilimleri.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
22	www.gecekitapligi.com İnternet Kaynağı	<% 1
23	Geze, Yeşim. "Covid-19 Tanısı Konulan Sağlık Çalışanlarının Hastalık Sonrası Yorgunluk ve Uyku Kalitelerinin İncelenmesi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023 Yayın	<% 1
24	KESKİN, Necla and TAMAM, Lut. "Postkontüzyonel sendromda tedavi", Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar, 2013. Yayın	<% 1
25	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
26	es.scribd.com İnternet Kaynağı	<% 1

- 27 AKKAN, Hasan Altan and KARACA, Mehmet. "Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı", Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2003. <% 1
Yayın
-
- 28 Karaosmanoglu, Oguzhan. "Kemoterapi Ajanlarına Dirençli Hepatosellüler Karsinoma Hücrelerinde Olası Biyosaretlerin in Vitro Araştırılması", Anadolu University (Turkey), 2021 <% 1
Yayın
-
- 29 Tufekci, Mehmet Ali. "Huntington Hastalığı'nda Poliamin Metabolizmasının Eksitotoksikiteye Etkisinin Araştırılması", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2021 <% 1
Yayın
-
- 30 Biomarkers in Disease Methods Discoveries and Applications, 2015. <% 1
Yayın
-

Alıntıları çıkart Kapat
Bibliyografyayı Çıkart üzerinde

Eşleşmeleri çıkar Kapat

8. ÖZGEÇMİŞ

