



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**PARVOVİRAL ENTERİSTİSLİ KÖPEKLERDE YANGISAL
BİYOBELİRTEÇ OLARAK ENDOTEL HÜCRE SPESİFİK
MOLEKÜL-1'İN (ENDOCAN) ÖNEMİ**

Hazırlayan
Mehmet Mustafa OFLAZ

Danışman
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

Yüksek Lisans Tezi

Mart-2022
KAYSERİ

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

**PARVOVİRAL ENTERİSTİSLİ KÖPEKLERDE YANGISAL
BİYOBELİRTEÇ OLARAK ENDOTEL HÜCRE SPESİFİK
MOLEKÜL-1'İN (ENDOCAN) ÖNEMİ**

Yüksek Lisans Tezi

Hazırlayan
Mehmet Mustafa OFLAZ

Danışman
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi
tarafından TYL-2021-9233 no'lu proje ile desteklenmiştir**

Mart-2022
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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

Adı Soyadı: Mehmet Mustafa OFLAZ

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Parvoviral Enteritisli Köpeklerde Yangısal Biyobelirteç Olarak Endotel Hücre Spesifik Molekül-1’in (Endocan) Önemi” adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Mehmet Mustafa OFLAZ

Danışman

Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

Prof. Dr. Vehbi Güneş danışmanlığında, **Mehmet Mustafa OFLAZ** tarafından hazırlanan “**Parvoviral Enteritisli Köpeklerde Yangısal Biyobelirteç Olarak Endotel Hücre Spesifik Molekül-1’in (Endocan) Önemi**” adlı çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner İç Hastalıkları** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.../.../2022

JÜRİ

İMZA

Danışman : Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

Üye : Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL

Üye : Prof. Dr. Erdoğan UZLU

ONAY

Bu tezin kabulü Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitü Yönetim Kurulunun.....tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

“Sesini değil, sözünü yükselt

Çiçekleri büyüten yağmurdur

Gök gürlemesi değil...”

(Mevlana Celaleddin-i Rumi)

Öncelikle veteriner hekimlik mesleğini seçmemde bana kılavuz olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım dedem Hacı Mollaalioğlu’nu rahmetle anıyorum.

Tezimin gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, her zaman bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle elinden gelenin fazlasını yapan, her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm danışman hocam sayın Prof. Dr. Vehbi Güneş’e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmam sürecinde örneklerin toplanmasında ve tezimin laboratuvar çalışmalarında her zaman yanımda olan ve kıymetli desteklerini sağlayan; Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim dalındaki değerli hocalarım olan; Prof. Dr. İhsan Keleş, Prof. Dr. Mehmet Çitil, Prof. Dr. Öznur Aslan, Dr. Öğr. Üyesi İlknur Karaca Bekdik, Dr. Araş Gör Gencay Ekinci, Araş. Gör. Emre Tüfekci ile Anabilim dalımızda eğitim gören diğer doktora, yüksek lisans, lisans öğrencilerine ve laborant Hayal Taşkın’a teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından TYL-2021-9233 no’lu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimine teşekkür ederim.

Mehmet Mustafa OFLAZ

Mart 2022, Kayseri

**PARVOVİRAL ENTERİTİSLİ KÖPEKLERDE YANGISAL
BİYOBELİRTEÇ OLARAK ENDOTEL HÜCRE SPESİFİK MOLEKÜL-
1'İN (ENDOCAN) ÖNEMİ**

Mehmet Mustafa OFLAZ

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Mart 2022

Danışman: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

ÖZET

Bu tez çalışması bir yangısal biyobelirteç olan endotel hücre spesifik-1 (ESM1)/ Endocan'ın parvoviral enteritisli (CPV) köpeklerde yangısal süreç ile ilişkisinin olup olmadığını ortaya koymak amacıyla yapıldı. Bu amaçla parvoviral enteritisli köpeklerde, Endocan parametresi yanında bir sitokin (IL-6) ve bir akut faz proteini (CRP) ile birlikte; klinik, biyokimyasal, hematolojik parametrelerdeki değişimler de incelendi. Çalışmaya, Kayseri ve civar illerden Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim-Araştırma ve Uygulama Hastanesine getirilen 6-20 haftalık yaş aralığında, farklı ırklardan, 24 erkek ve 16 dişi olmak üzere toplam 40 adet CPV antijen pozitif köpek dahil edildi. Kontrol grubunu ise; aynı yaş aralığındaki 12 erkek ve 8 dişi toplam 20 adet sağlıklı köpekler oluşturdu. Hasta ve kontrol grubundan elde edilen serum örneklerinde; Endocan, IL-6 ve CRP düzeyleri sandviç ELISA metodu ile analiz edildi. Ortalama Endocan düzeyleri parvoviral enteritisli köpeklerde 68.07 ng/L (17.30-115.55) ve sağlıklılarda ise 11.92 ng/L (10.32-13.58) olduğu belirlendi. Hasta grubu ortalama Endocan seviyesi sağlıklı grubun ortalamasından istatistiksel olarak ($p<0.001$) anlamlı düzeyde yüksek bulundu Ortalama CRP düzeyleri ise parvoviral enteritisli köpeklerde 20.87 ± 6.34 mg/L, sağlıklılarda 2.24 ± 0.66 mg/L olarak bulundu. Ortalama IL-6 düzeyi hasta köpeklerde 2.32 ± 0.84 pg/ml, sağlıklılarda ise 1.07 ± 0.61 pg/ml olarak belirlendi. Hasta grubundaki hem ortalama CRP düzeyi hem de ortalama IL-6 düzeyleri, sağlıklılardan istatistiksel açıdan önemli oranda ($p<0.01$) farklıydı. Bu çalışmada elde edilen verilere göre; parvoviral enteritisli köpeklerde Endocan ve CRP düzeylerinin hastalarda önemli birer biyobelirteç olduklarını destekleyen sonuçlar elde edildi. Endocan ve CRP düzeyleri ile IL-6 değerlerinin birbirleri ile ilişkili olduğu ve

aralarında pozitif korelasyonların belirlenmesi nedeniyle Endocan araştırmalarında IL-6 seviyelerinin de araştırılmasının gerekliliği değerlendirildi. Bu tez alışması, ESM1/Endocan zerine küçük hayvanlarda yapılmış ikinci çalışmadır. Dolayısıyla bu alanda halen kontrollü, sepsis kriterlerinin doğrulandığı, hastalık süresince Endocan düzeyi takiplerinin yapıldığı, damar endotelindeki hasarın immünohistokimyasal olarak değerlendirildiği daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyomarker; Endocan; Parvoviral Enteritis



**SIGNIFICANCE OF ENDOTHELIAL CELL SPECIFIC MOLECULE-1
(ENDOCAN) AS AN INFLAMMATORY BIOMARKER FOR DOGS WITH
PARVOVIRAL ENTERITIS**

Mehmet Mustafa OFLAZ

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Veterinary Internal Medicine

M.Sc. Thesis, March 2022

Supervisor: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ

ABSTRACT

This study was conducted to determine whether endothelial cell specific-1 (ESM1)/ Endocan, an inflammatory biomarker, is associated with the inflammatory process in dogs with parvoviral enteritis (CPV). For this purpose, in dogs with parvoviral enteritis, changes in clinical, biochemical and hematological parameters were investigated with a cytokine (IL-6) and an acute phase protein (CRP) in addition to the Endocan parameter. A total of 40 CPV antigen-positive dogs, 24 male and 16 female, from different breeds, aged 6-20 weeks, brought to Erciyes University Veterinary Faculty Training-Research and Practice Hospital from Kayseri and surrounding provinces were included in the study. The control group; A total of 20 healthy dogs, 12 male and 8 female, were formed in the same age range. In serum samples obtained from the patient and control groups; Endocan, IL-6 and CRP levels were analyzed by sandwich ELISA method. Mean Endocan levels were 68.07 ng/L (17.30-115.55) in dogs with parvoviral enteritis and 11.92 ng/L (10.32-13.58) in healthy dogs. The mean Endocan level of the patient group was found to be significantly ($p<0.001$) higher than the mean of the healthy group. The mean CRP levels were found to be 20.87 ± 6.34 mg/L in dogs with parvoviral enteritis and 2.24 ± 0.66 mg/L in healthy dogs. The mean IL-6 level was determined to be 2.32 ± 0.84 pg/ml in dogs with CPV and 1.07 ± 0.61 pg/ml in healthy dogs. Both mean CRP level and mean IL-6 levels in the patient group were significantly ($p<0.01$) different from the healthy ones. According to the data obtained in this study, results supporting that Endocan and CRP levels are important biomarkers in dogs with parvoviral enteritis were obtained. Since Endocan and CRP levels with IL-6 values are correlated with each other and positive correlations were determined between them, the

necessity of investigating IL-6 levels in Endocan studies was evaluated. This thesis is the second study on ESM1/Endocan in small animals. Therefore, it was concluded that there is a need for further controlled studies in this area, in which the sepsis criteria are confirmed, Endocan levels are monitored throughout the disease, and the damage in the vascular endothelium is evaluated immunohistochemically.

Keywords: Biomarker; Endocan; Parvoviral Enteritis



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
KISALTMALAR.....	xii
TABLO ve ŞEKİL LİSTESİ	xiv
RESİM LİSTESİ.....	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.Geçmişten Bugüne Canin Parvovirus	4
2.2. Köpeklerin Parvoviral Enfeksiyonu	5
2.2.1. Etiyoloji.....	5
2.2.2. Patogenez.....	6
2.2.3. Klinik Belirtiler	8
2.2.4. Teşhis	10
2.2.4.1. Laboratuvar Bulguları.....	11
2.2.4.1.1. Hematoloji.....	11
2.2.4.1.2. Serum Biyokimya	12
2.2.5.Tedavi.....	14
2.2.5.1. Sıvı Tedavisi.....	14
2.2.5.2. Antibiyotik Tedavisi	15
2.2.5.3. Antiemetik Tedavi	15
2.2.5.4. Antiviral Tedaviler	16
2.2.5.5. Gıda Desteği.....	16
2.2.6. Koruma.....	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1. Hayvan Materyali	21

3.2. Klinik Belirtiler	22
3.3. Tedavi Protokolü	23
3.4. Yöntem.....	23
3.4.1. Hematolojik analizler	24
3.4.2. Hızlı test kiti analizleri	24
3.4.3. Serum biyokimya analizleri.....	24
3.4.4. ELISA Analizleri	25
3.4.4.1. Endocan analizleri	25
3.4.4.2. Serum C reaktif protein (CRP) analizleri.....	26
3.4.4.3. Serum IL-6 analizleri	26
3.4.4.4. İstatistiksel analizler	27
4. BULGULAR	28
4.1. Klinik Bulgular.....	28
4.2. Vital Bulgular	28
4.3. Hematolojik analiz bulguları.....	29
4.4. Serum Biyokimya analiz bulguları.....	30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	34
6. KAYNAKLAR	48
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

AFP	: Akut Faz Proteinleri
Ag	: Antijen
ALB	: Albümin
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Transaminaz
CPV	: Canin Parvovirus
CPV-1	: Canin Parvovirus Tip-I
CPV-2	: Canin Parvovirus Tip-II
CPV-2a	: Canin Parvovirus 2a
CPV-2b	: Canin Parvovirus 2b
CPV-2c	: Canin Parvovirus 2c
CRP	: C-Reaktif Protein
CRT	: Kapillar Dolum Süresi
DIC	: Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma
EOS	: Eosinofil
ESM-1	: Endotel Hücre Spesifik Molekül-1
FGF-2	: Fibroblast Büyüme Faktörü-2
G-CSF	: Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
GGT	: Gama Glutamik Transferaz
GRAN	: Granülosit
HCT	: Hematokrit
HGB	: Hemoglobin
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
HR	: Kalp atım hızı
IC	: İmmunokromatografi
ICAM-1	: İntersellüler Adezyon Molekülü-1

IL-1	: İnterlökin 1
IL-6	: İnterlökin-6
IM	: İntramusküler
IMHA	: İmmün Aracılı Hemolitik Anemi
IV	: İntravenöz
KDa	: Kilodalton
KRT	: Kemoreseptör Trigerzone
LFA-1	: İntegrin
LPS	: Lipopolisakkarit
LYM	: Lenfosit
MON	: Monosit
PCV	: Hematokrit
PIRO	: Organ Yanıt Disfonksiyonu
PLT	: Platelet
PVE	: Parvoviral Enteritis
RBC	: Red Blood Cell
rFeIFN- ω	: Rekombinant Felin Interferon Omega
RR	: Solunum sayısı
SC	: Subkutan
SF	: Saçılma Faktörü
SIRS	: Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu
TNF α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WBC	: White Blood Cell

TABLO ve ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 1. CPV’li 94 köpekte muayene gözlenen fiziki bulgular ve yüzdeleri.....	9
Tablo 2. CPVli 76 köpekte hematolojik anormallikler.....	12
Tablo 3. CPVli 76 köpekte serum biyokimyasal anormallikler.....	13
Tablo 4. CPV tedavisinde kullanılan bazı antibiyotikler.....	16
Tablo 5. Çalışma ve kontrol grubunun ortalama vital bulguları.....	31
Tablo 6. Çalışma ve kontrol grubunun ortalama hematoloji bulguları.....	31
Tablo 7. Çalışma ve kontrol gruplarının ortalama serum biyokimya değerleri.....	32
Tablo 8. Gruplar arası Endocan, IL-6 ve CRP konsantrasyonlarının Karşılaştırılması	32
Tablo 9. Korelasyon analizi sonuçları.....	33
Tablo 10. Endocan, CRP ve IL-6 kesme noktası için duyarlılık, özgüllük, olasılık oranı ve çalışma özellikleri (ROC) eğrisi altındaki alan değerleri.....	33
Şekil 1. Endocan analizine ait standart eğri grafiği.....	27
Şekil 2. CRP analizine ait standart eğri grafiği.....	28
Şekil 3. IL-6 analizine ait standart eğri grafiği.....	28
Şekil 4. ROC Analizi Sonuçları.....	34
Şekil 5. Gruplar arası endocan konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	34
Şekil 6. Gruplar arası CRP konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	35
Şekil 7. Gruplar arası IL-6 konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	35

RESİM LİSTESİ

Resim 1.....	24
--------------	----



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Köpeklerde parvoviral enteritis genellikle 6-20 haftalık yaş grubundaki genç köpeklerde görülür. Parvoviral enteritis nadiren de yetişkin köpeklerde görülür. Çoğunlukla akut, fibrinli, nekrotik ve hemorajik enteritis bazen de myokarditis ile seyreden oldukça bulaşıcı, ölümcül viral bir hastalıktır. Hastalığın bulaşması fekal-oral yolla oluşur. Hastalık yüksek oranda bulaşıcıdır, özellikle genç ve aşılanmamış hayvanlarda çok yaygındır (Goddard, Leisewitz, 2010). Virüs, hızlı bölünme gösteren konakçı hücrelerinde daha çok çoğalma eğilimindedir. Bu hücreler bağırsak kript hücreleri, lenf hücreleri ve kemik iliği hücreleridir. İki-dört haftalık yavru köpeklerde myokardiumun da etkilendiği görülmektedir. Bakteriyel toksinlerin absorpsiyonu ve hasarlı mukozaya bakterilerin geçmesi ve dolaşıma katılmaları ile sekonder sepsis şekillenir (Pollock, 1984). Hastalığın teşhisi klinik bulgular ve laboratuvar analizleri ile yapılabilmektedir. Klinik bulgular; hayvanın yaşı, maternal antikor titresi, immun durumu, virusun türü ve miktarına göre değişir. Rotweiler ve dobermanlar daha çok etkilenir.

Hastalığın yaşa bağlı klinik belirtileri içerisinde, yaklaşık 6 haftalık yaştan sonra görülen belirtiler, anoreksi, kusma, ishal (sıkça hemorajik) ve letarjidir. Dehidrasyon, ateş ve solgun mukoz membranlarda görülebilmektedir. Dört-altı haftadan önceki yaşlarda enteritisten daha çok solunum güçlüğü (dispne) ve myokarditis nedeniyle ani ölüm gelişir (Smitth-Carr ve ark., 1997; Lamm ve Rezabek, 2008). Laboratuvar bulguları; lökopeni, anemi, panhipoproteinemi ve hypoglisemidir. ELİSA testleri parvoviruslar için teşhisi için kullanılabilir (Pollock ve Coyne, 1993).

Canin parvovirüs, viral replikasyon için bağırsak kript hücreleri ve lenfoid organları hedef dokular olarak seçer. Oronasal penetrasyon sonrası, virüs gastrointestinal lenfoid dokularda çoğalır. Enfekte lökositler ile ince bağırsak kriptlerinin germinal epiteline yayılarak ishale sebep olur. Canin parvovirüs enfeksiyonu organizmaya girdikten 3-4 gün gibi kısa bir süre sonra başlar. Virüs atılımı 1-2 haftaya kadar devam eder.

Anti-trombinin gastrointestinal kanal aracılığı ile kaybı, anti-trombinin tüketimine neden olan endotoksin nedenli aktif koagülasyon ve hiperfibrinojenemi köpek parvoviral enteritisinde görülen yüksek oranda koagülasyon oluşumuna katkıda bulunabilir. Myeloproliferatif hücrelerin ölümü ve timik lenfositosis, immünsüpresyona sebep olur. Hasarlı bağırsak duvarı ve villus atrofişi nedenli malabsorbsiyon; sıvı ve protein kaybının devamına sebebiyet verir. Bakteriyel sepsis ve endotoksemiye neden olarak hızlı bir şekilde şok ve ölüme yol açabilir. Pnömoni CPV'nin diğer belirtisidir.

Tedavide; öncelikle hasta hayvanlar 2-3 hafta diğer hayvanlardan ayrılır. 24 saat süresince hayvanlar kusmuyorsa ve ishal azalmışsa yeme içmeye izin verilebilir. Elektrolit bozukluklarının düzeltilmesi amacıyla laktatlı ringer, serum dextroz ve poliyonik dengeli elektrolit sıvıları verilir. Şiddetli hipoproteinemi varsa plazma transfüzyonu yapılmalıdır. Ateş, nötropeni ve sepsiseminin engellenmesi için antibiyotik tedavisi gereklidir. Ampisilin, amoksisilin veya cefazolin hafif veya orta düzeyde seyreden hastalıklarda kullanılırken, daha geniş spektrumlu antibiyotikler (örn: ampisilin veya cefazolinle aminoglikozitler veya cefoxitin) şiddetli ve sepsis durumlarında birlikte kullanılmalıdır. Sekonder septik şokun tedavisinde flunixin meglumimin tek doz uygulamaları veya bir kortikosteroid kullanılır. Fakat her iki ilacında tekrarlayan dozları gastrik ülser oluşturur. Eğer diğer klinik belirtilerin azalmasına rağmen kusma devam ediyorsa metaklopramid veya diğer antiemetik ilaçlar uygulanmalıdır. Bu ilaçlara cevap alınamazsa ondansetron, dolasetron gibi serotonin antagonistlerinden faydalanılır. 5-HT₃ antagonisti olarak da bilinirler ve kemoreseptör triggerzone (KRT) stimülasyonunu bloke ederler, inatçı kusmalarda kullanılırlar. Bağırsakların invaginasyonu parvovirus ve diğer tip enteritler için önemli bir komplikasyondur. Yeterli destekleyici tedavi uygulandığında prognoz iyidir. Fakat gençlerde, yavru ve yetişkinlerde sepsis gelişebilir. Bazı ırklar da prognoz daha kötüdür (Prittie, 1993). Korunma amacıyla yavru 6-8 haftalık olduktan sonra 18-20 haftalık olana kadar ayda bir aşılanabilir veya bir yaşına kadar 1 ay arayla 2 kez aşılanır daha sonra yıllık tekrarlanır. Aşılamaya tamamlanana kadar bulaşma engellenmelidir. Aşılamaya faydalı ise de tüm köpeklerde tam bir immünite sağlanmaz (Johnson ve Smith, 1983).

Endotel hücreleri tarafından eksprese edilen sistein bakımından zengin bir dermatan sülfat proteoglikan olan Endocan, endotel disfonksiyonun belirlenmesinde yeni bir biyobelirteç olabileceği ifade edilmektedir. Köpeklerde dissemine intravaskular koagülasyon (DIC) olmaksızın yüksek koagülasyon tablosu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Bu tablo endotel hücreler üzerine endotoksin veya sitokin aracılı prokoagulant etki ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu nedenle Endocan gibi damar endotelinden köken alan bir biyobelirtecine parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde koagulopati ve sepsis gibi nedenlerle kandaki düzeylerinin artması beklenebilir. Ayrıca bu projenin kapsamı içerisinde ilgili parametrenin parvoviral enfeksiyon gibi sistemik hastalıklı köpeklerde teşhis ve prognozdeki etkinliğinin ortaya konulması önemli bir gelişme olacaktır.

Köpek Parvovirusu hastalığında kandaki Endocan düzeyleri ve aynı köpeklerin diğer yangısal parametrelerindeki değişikliklerin hastalığın teşhisi, prognozu ve patogeneze katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle akut parvovirus enfeksiyonu geçirmekte olan hasta köpeklerin plazma örneklerinde yangısal bir biyobelirteç olarak son günlerde beşeri hekimlikte güncel bir parametre olan Endocan düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu sayede Parvoviral Enteritisli köpeklerde görülen damar endotel hasarının tayini ve hastalığın patogenezi ile ilişkisi ve tedavi protokolünün izlenmesine olabilecek katkısı bu tez projesi ile değerlendirildi.

Endotel hücreleri sepsis patogenezinde önemli bir role sahiptir. Endotelden salınan Endocanın (endotel hücre spesifik molekül-1), insanlardaki sepsis çalışmasında düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği, ayrıca endotel disfonksiyonunu, multiorgan yetmezliğini ve sepsisteki sağkalımı göstermede iyi bir biyobelirteç olduğu kanıtlanmıştır (Büyüktiryaki ve ark., 2017). Endotel hücre spesifik molekülü-1 (ESM-1) olarak da adlandırılan Endocan, başlıca akciğer damar sisteminden eksprese edildiği gösterilmiştir. Yapısal olarak, endocan / ESM-1, ICAM-1 ve LFA-1 integrinleri ile etkileşime girebilen ve dolayısıyla yangısal olayları önleyen 50 kDa'lık bir proteoglikandır. Vazküler endotelin; iltihaplanma, pıhtılaşma, anjiyogenez ve tümör invazyonunda, öncelikle reseptör/ligand etkileşimlerinin ayarlanması ile ve farklı mediyatörlerin sekresyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Geçmişten Bugüne Canin Parvovirus

Canine parvovirüs (CPV) enfeksiyonu köpeklerin akut, bulaşıcı viral bir hastalığı olup, dünya çapında genç köpeklerde morbidite ve mortalitenin en yaygın nedenlerinden biridir (Mylonakis ve ark., 2016). Hastalık 1970'lerin sonundan itibaren bütün dünyada yaygın olarak belirlenmiştir.

Köpeklerde parvovirusun yaygın iki tipi mevcuttur. Canine parvovirus tip-1 (CPV-1) küçük olup minyatür virüs olarak tanınır. Bu virüs köpeklerde gastrointestinal ve solunum problemlerine sebep olmaktadır. Ancak enfektif ishale neden olduğu sonradan ortaya çıkmıştır. Virüsün bu tipi (Canin Parvovirus Tip-I) ilk olarak 1960'ların sonlarında köpeklerin mide-bağırsak ve solunum yolu enfeksiyonunun bir nedeni olarak keşfedildi (Lamm ve Rezabek, 2008). On yıl sonra, CPV-1'in mutasyonu, belirgin şekilde farklı bir varyant olan CPV-2 ile sonuçlandı. Bu varyant daha önce CPV'ye maruz kalmayan hem yetişkin hem de genç köpeklerde ilk pandemik salgına neden oldu (Lamm ve Rezabek, 2008).

Tip-II asıl canin parvovirus olarak tanımlanmaktadır. 1978 yılında İngiltere'de panlökopeni virüsü ile antijenik ilişkisi olduğu kanıtlanmıştır. Panlökopeni virusunun mutasyonu sonucu çıkmıştır. İkinci mutasyon 1981 senesinde keşfedilmiştir. Bu mutant hızla birinci (1978) mutantın yerini almıştır. Köpeğe tam olarak adapte olan bu ikinci mutant virus, 22 nm çapında olup CPV-2 olarak isimlendirilmiştir (Bilal, 2012). Daha sonra CPV-2a ve CPV-2b adı altında isimlendirilen iki adet suş saptanmıştır. Günümüzde köpeklerde dünya genelinde salgınlara ve ölümlere neden olmaktadır. CPV-2a ve CPV-2b'nin yanı sıra 2000 yılında daha virulent olan CPV-2c adı verilen üçüncü bir suş bulunmuştur (Charoenkul ve ark., 2019).

CPV-1 ve CPV-2'nin ilk izolasyonundan bu yana, 1980'lerdeki genetik sürüklenme, 2 varyant (CPV-2a ve CPV-2b) ile sonuçlanmıştır, bunu 2000 başlarından beri daha yakın

zamanda tanınan üçüncü bir varyant (CPV-2c) takip etmiştir. Bu izolatın da dünya çapında yayıldığı belirlenmiştir (Decaro ve ark., 2007). CPV-2 suşlarına karşı aşılanmanın geliştirilmesine ve yaygın biçimde uygulanmasına rağmen, hastalık halen veteriner hekimliği alanında önemini korumaktadır.

2.2. Köpeklerin Parvoviral Enfeksiyonu

2.2.1. Etiyoloji

Köpek parvovirüsü, gastrointestinal sistem, kemik iliği, lenfoid doku ve kardiyak miyositlerin hızla bölünen hücrelerini enfekte eden tek sarmallı bir DNA virüsü olan Parvoviridae familyasından Protoparvovirus cinsine aittir (Goddard ve Leisewitz, 2010). Köpek parvovirüsünün kökeni bilinmemektedir. Canin parvovirus, feline panleukopenia virüsü ile %98 yapısal homoloji paylaştığı için (Chang ve ark., 1992) teorik olarak CPV'nin daha sonradan köpekleri enfekte edebilen bir genetik varyanttan kaynaklanmış olabileceği belirtilmektedir (Ohshima ve ark., 2009). Diğer taraftan Parvoviridae ailesi yabani vizon da dahil olmak üzere diğer vahşi memelilerde bulunduğundan (Wang ve ark., 2012) diğer vahşi yaşamdaki genetik çeşitlilik CPV-1 ve CPV-2'nin gelişiminde de rol oynayabileceği ifade edilmiştir (Kramer ve ark., 1980; Pollack ve Carmichael, 1988)

Parvoviridae ailesinden canine parvovirus tip-2 özellikle mitotik aktivitesi yüksek organlara affinite gösterir, bu nedenle leukopeni, hemorajik gastroenteritis ve miyokarditis ile karakterize hastalığa neden olur. Canine parvovirus tip-2 her yaşta, ırkta ve cinsiyette köpekte görülebilir. Özellikle 6-24 haftalık yaş aralığındaki köpekler enfeksiyona karşı çok duyarlıdır. Bu yaş grubundaki yavrularda daha şiddetli klinik belirtiler görülmektedir. Hastalığı atlatan ve aşılanmış köpeklerde bağışıklığın süresi uzundur. Böylece yavrunun hastalığı atlattıktan veya aşılandıktan sonra tekrar hastalığa yakalanma olasılığı çok düşüktür. Yavru köpekler hayatlarının ilk günlerinde anneden gelen maternal antikorlar ile korunabilir (annenin aşı olması şartı). Neonatal enfeksiyonlar aşısız anneden doğan yavru köpeklere oranla daha çok görülür. Maternal antikorların yarılanma süresi 8-10 gündür. Maternal antikor seviyesi ne kadar yüksekse yavruların hastalığa karşı olan duyarlılığı o derecede azdır (Goddard ve Leisewitz, 2010).

İrk hassasiyetinin sebebi henüz bilinmemekle beraber CPV hastalığına predispoze ırklar: Rotweiler, Doberman, Amerikan pitbul terrier, Labrador retriever ve German shepherd (Goddard ve Leisewitz, 2010).

Mevsimsel değişimler hastalığın görülme oranında değişiklik gösterir. Köpeklerin parvoviral enteritis hastalığı yaz aylarında kış aylarına oranla çok daha az görülmektedir. Tedavi edilmeyen enfekte köpeklerde mortalite oranının %4-40 olduğu saptanmıştır. (Prittie, 2004).

2.2.2. Patogenez

CPV-2 suşları, rakun, kedi, çakal ve kurtlar dışındaki memeli konakçıları enfekte edebildikleri, çevrede yaygın bulunabildikleri ve uygun koşullar altında 1 yıldan fazla canlı kalabildikleri için enfeksiyon tedavilerine karşı direnç gösterirler (Sykes, 2014; Mylonakis ve ark., 2016)

Parvoviral enteritis enfeksiyonuna her yaştan köpek yakalanabilir. Yavru köpeklerde miyokardial ve enteritis formu beraber seyreder. Yeteri kadar kolostrum almamış yavru köpeklerde perinatal dönemde miyokardiyal formun meydana gelme ihtimali daha yüksektir. Ancak sahipli köpeklerin çoğu yeterli düzeyde kolostrum aldığı için günümüzde daha çok enterit formu ile karşılaşmakta bu nedenle enterik formu enzootik olarak seyretmektedir.

Dokunun CPV'yi kabul edip edemeyeceği o dokunun yaşına bağlıdır. Neonatal veya perinatal dönemde ya da ilk birkaç haftalık dönemde miyokardium hücreleri daha fazla mitotik aktivite gösterdiğinden etken oraya yerleşir. Bu periyotta enfeksiyon miyokarditisle sonuçlanır. Köpeklerin CPV-2'ye karşı yaygın olarak aşılama stratejileri geliştirilmeden önce miyokardit, enfekte hayvanlarda yaygın bir ölüm nedeni olsa da günümüzde nadiren ortaya çıkmaktadır (Strom ve ark., 2015; Sime ve ark., 2015; Ford ve ark., 2017).

Doğumdan birkaç hafta sonra kalp hücrelerinin bölünmesi durur ancak ince bağırsak hücrelerinin bölünmesi artar. Bu dönemde de enteritis gelişir. Sınırlı ve durağan bağırsak florasına sahip köpeklerde mitotik aktivite düşüktür ve kolayca viremi ve lökopeni şekillenmesine rağmen enteritis seyrek görülür. Bağırsak florası değişiklik gösteren köpeklerde mitotik etkinlik yüksek olduğundan hastalık daha fazla görülür.

CPV fekal-oral yolla (doğrudan bulaşma) veya dışkıyla kontamine olmuş materyallerle oronazal yolla (dolaylı bulaşma) köpekler arasında yayılır. Akciğerler, dalak, karaciğer, böbrekler ve miyokarddan virüs izole edilmiş olup, CPV enfeksiyonunun sistemik bir hastalık olduğunu göstermektedir (Smith-Carr ve ark., 1997).

CPV’de en hızlı bulaşma yolu fekal-oral bulaşmadır. Oronazal maruziyet ve enfeksiyon, enfekte hayvanların kusmuşunda veya dışkıdaki CPV-2’nin yutulmasıyla korunmasız veya zayıf bağışıklığı olan köpeklerde meydana gelir. Maruziyet sonrası 4 ila 14 gün arasında değişebilen bir kuluçka döneminden sonra, virüs bulaşması genellikle klinik kusma ve hemorajik ishal belirtilerinin başlamasından birkaç gün önce oluşur (Smith-Carr ve ark., 1997; Decaro ve ark., 2005; McCaw, 2006).

Virüs daha sonra ilk olarak orofarengeal ve mezenterik lenf düğümlerinde ve timusta çoğalır ve enfekte hayvanlar maruz kaldıktan sonraki 1 ila 5 gün içinde viremi gelişir (Goddard ve Leisewitz, 2010). Daha sonra, CPV-2, akciğer, dalak, karaciğer ve böbreklere ek olarak bağırsak epitelyal kriptlerinin, kemik iliğinin, dil epitelinin, ağız boşluğunun ve kardiyak miyositlerin hızla bölünen hücrelerini hedefler (Ford ve ark., 2017). İnce bağırsak epitel hücreleri, lenfoid doku ve kemik iliğine yerleşir. Bağırsak kriptlerinde nekroz, ishal, lökopeni ve lenfoid dokuda yıkıma neden olur.

Generalize lenfositoz ve lenfositopeni 3-6 gün içinde meydana gelir. İnce bağırsak peyer plakları istila edilmiş lenfoid alanlarla ilişkili olduğundan virüs intestinal epitele yerleşir. Virus burada 5-10 gün içinde enterik lezyonlara neden olur. Epitel hücreleri yıkımı, kript aplazisi ve total mukozal hasar tablosunu oluşturur (Bilal, 2007). Enterosit döngüsü bozulduğu için bağırsak mukozası soyulur ve bağırsak villusunun körelmesine neden olur, bu da besin emilim bozukluğu ve enterik bakteriyel translokasyonun yanı sıra klinik kusma ve hemorajik ishal belirtilerine neden olur. Timustaki viral enfeksiyon, timik korteksin yıkımına ve çökmesine neden olur. Kemik iliğinde lökosit öncülerinin yok edilmesiyle birlikte bu bulgu, enfekte hayvanlarda önemli lökopeni ile sonuçlanır (Pollack, 1982; Decaro ve Buonavoglia, 2012). Etkilenen hayvanlarda bağışıklık sisteminin yetersizliği, bağırsak bakterilerinin translokasyonundan kaynaklanan bakteriyemi ile birleştiğinde, septik şok, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, multiorgan yetmezliği ve tedavi edilmezlerse ölüm riski ortaya çıkar.

Virüsün fekal atılımının deneysel inokülasyondan 3 gün sonra meydana gelir. Atılımın klinik veya subklinik hastalıktan sonra maksimum 3 ila 4 hafta devam edebileceği

belirtilmiştir. Tedaviye cevap verip iyileşen hastalar virüs için taşıyıcı görevi görürler. Enfeksiyonu diğer köpeklerle direk temas, fekal–oral bulaşma veya solunum yoluyla yayarlar (Johnson ve Smith, 1983). CPV-2 ile enfekte yavru köpeklerde nadir bulgular içerisinde eritema multiforme (Woldemskel ve ark., 2011), lökoensefalopati, (Schaudien ve ark., 2010), periventriküler ensefalit ile poreensefali belgelenmiştir (Marenzoni ve ark., 2019).

2.2.3. Klinik Belirtiler

CPV enfeksiyonu canine parvoviral miyokarditis ve canine parvoviral enteritis olmak üzere iki klinik formdan meydana gelir (Bilal, 2007). CPV miyokarditis, uterus başlar. Köpek yavrusunun hayatının ilk iki haftası içerisinde tamamlanan miyokardial hücre yenilenmesinin hızlı olduğu periyotta yavruların virustan etkilenmesi sonucunda görülür (Pollock ve Coyne, 1993; Carr-Smith ve ark., 1997). Köpekte hiçbir klinik belirti göstermeden hızlıca gelişen miyokardit ve dispne tablosu sonucu ani ölüm şekillenir (Bilal, 2007).

Fiziksel muayene bulguları, hastalık belirtileri, klinisyen şüphe indeksi ve diğer tanı testleri CPV enfeksiyonu için destekleyici olabilir ancak patognomonik olmayabilir. Parvoviral enteritin en yaygın klinik belirtileri letarji, iştahsızlık, kusma ve ishaldir. İshalin görünümü yumuşaktan mukoid sıvıya ve kanamalıya kadar değişebilir. Bağırsak mukozasının hasarı dışkıya kırmızı jelatinimsi bir görünüm verebilir. Gastrointestinal sıvı kayıpları ile hipovolemik şoka ilerleyen intersitisyel dehidratasyon hızla meydana gelebilir. Ayrıca enterositlerden besin emiliminin olmaması, sistemik bakteriyemi ayrıca yeterli karaciğer ve kas glikojen depolarının olmaması da nöroglikopeni ve nöbetlerle birlikte önemli hipoglisemiye neden olabilir (Mazzaferro, 2020).

Parvoviral enteritis, alışlagelen klinik formları olmakla beraber, her yaştaki köpekte görülse de özellikle 6-24 haftalık yaş skalasındaki yavru köpekleri etkiler. Morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalıktır (Turgut ve Ok, 2001; Bilal, 2007). Hastalık jejunum ve ileum ile sınırlıdır. Epitel hasar ne kadar çoksa klinik semptomların şiddeti epitel hasarla doğru orantılı olarak artar. Virüs, replikasyon için aktif bölünebilen hücrelere ihtiyaç duyar. Jejunum ve ileumda bulunan intestinal villilerdeki kript epitellerine yerleşir. Virus burada replike olur.

Enteritiste gelişen klinik semptomlar nonspesifiktir. Genel semptomlar anoreksi, halsizlik, depresyon, mukuslu dışkıdan tamamen kanamaya kadar değişebilen kötü kokulu ishal, kusma, dehidrasyon ve ateş içerir (Houston ve ark., 1996; Kalli ve ark., 2010). Kusma şiddetli ve inatçıdır. Hasta sahipleri ishal gelişinceye kadar yabancı cisimden şüphelenir. İshal kusmanın başlangıcından 1-2 gün sonra meydana gelir. Dışkı başlangıçta pis kokulu ve suludur. Kan lekeleri barındırır.

Tablo 1. CPV'li 94 köpekte muayenede gözlenen fiziki bulgular ve yüzdeleri (Kalli ve ark., 2010)

Klinik Belirti	Köpek Sayısı (%)
Depresyon/Uyuşukluk	67 (71.3)
Anorexi	67 (71.3)
İshal	65 (69)
Hemorajik	48 (51)
Hemorajik olmayan	17 (18)
Kusma	62 (66)
Dehidrasyon	60 (64)
Mukoza Solgunluğu	32 (34)
Uzatılmış Kapiller Dolum Süresi	31 (33)
Ateş	31 (33)
Karın Ağrısı	18 (19)
Hipotermi	4(4)

Hızla dehidrasyon ve kilo kaybı şekillenir. Damariçi sıvı sağaltımı uygulanmaz ise 48-72 saat içerisinde ölüm meydana gelir. Hastada ishal tablosunun gelişmesinin sonucunda gastrointestinal yoldan sıvı ve protein kaybı oluşur. Buna bağlı olarak hipovolemik şok tablosu meydana gelir. Enterit formu bulunan hastalarda belirgin abdominal ağrı oluşur. Bu ağrının sebebi akut gastroenterit veya bağırsak spazmından dolayıdır. Sekiz haftadan büyük köpeklerde taşipne dispne, egzersize bağlı siyanoz, hepatomegaliye bağlı abdomen hacim artışı, taşikardi, QRS kompleksinde çökmeye beraber subakut kalp yetmezliği de gözlemlenebilir (Bilal, 2007).

Klinik belirtilerin şiddeti yaşa, koruyucu antikor titresine ve hastalık süresine göre değişebilir. Daha önce listelenen klinik belirtilere ek olarak, fizik muayenede mukozal solgunluk, gecikmiş kapiller dolum zamanı, ateş veya hipotermi ve karında rahatsızlık görülebilir. İnce bağırsak invaginasyonu oluşabilir ve karın palpasyonunda ağrılı, sert, tübüler yumuşak doku kitlesi olduğu belirlenebilir (Rallis ve ark., 2000). Klinik belirtilerin şiddeti, hastanede geçirilen sürenin uzunluğunu etkileyebilir (Kalli ve ark., 2010).

2.2.4. Teşhis

Parvovirüsün teşhisini yapmak için yalnızca klinik belirtilerin ve fiziksel muayenenin kullanılmasının tanısallık değeri sadece %58'dir. Şüpheli indeks, bireysel bir hastanın yaşına ve aşı durumuna bağlı olarak artabilir. Hastalık kusma ve ishale sebep olan ani mama değişiklikleri, Coronavirus, Salmonella enfeksiyonları ile karışabildiği için, sadece semptomlara bakılarak CPV enteritisi tanımlamak zordur. Çünkü parvoviral enteritisi diğer viral hastalıklardan ayırmak için virolojik muayeneye ihtiyaç vardır (Bilal-2007).

Enfeksiyondan 4 ila 7 gün sonra en yüksek yayılım bildirilmekle birlikte, CPV-2 ile enfeksiyondan sonraki 3 gün içinde virüsü dışkılarıyla yayabilirler (Pollack ve Carmichael, 1982; Johnson ve Smith, 1983).

Hayvan hastanelerinde, barınaklarda ve yetiştirme kulübelerinde hastalığın yayılmasının azaltılması amacıyla viral saçılma zamanı, enfeksiyonun doğru tespiti ve bulaşıcı hayvanların izole edilmesi oldukça önemlidir. Dışkıdan yapılacak ELISA testi ile pozitif veya negatif belirlenen köpeklerde klinik belirtiler benzerlik gösterirler (Decaro ve Buonavoglia, 2012; Proksch ve ark., 2015). Bu nedenle CPV-2 enfeksiyonunu tespit etme metodolojisi geniş çapta erişilebilir ve doğru olmalıdır.

Antemortem, CPV-2 dışkı, orofaringeal sürüntü veya tam kanda tespit edilebilir (Menuier ve ark., 1985; Decaro ve ark., 2005)

Kesin tanı, ELISA, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), elektron mikroskobu, hemagglütinasyon ve virüs izolasyonunu içeren çeşitli saptama yöntemleri kullanılarak dışkıdaki veya orofaringeal sürüntülerdeki virüs parçacıklarının saptanmasına bağlıdır (Maarkovich ve ark., 2012; Decaro ve ark., 2013).

Şu anda, virüs tespiti için DNA tabanlı PCR yöntemleri en hassas ve spesifik olarak kabul edilmekle birlikte, klinik ortamda hızlıca karar vermek için uygun değildir (Decaro ve ark., 2013).

Elektron mikroskobu, hemaglütinasyon ve virüs izolasyonu gibi diğer yöntemler, yalnızca özel laboratuvarlarda sınırlı olarak mevcuttur ve daha kolay temin edilebilen hasta başı ELISA veya PCR yöntemleri kadar hassas değildir (Decaro ve ark., 2013).

İmmunokromatografi (IC) yöntemi; immunokromatografik kart testi, strip test, dipstick test, lateral flow assay, lateral flow immunoassay, rapid test, immunoassay rapid test gibi çok fazla sayıda isimle tanımlanmaktadır. Son yıllarda bütün dünyada yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Düşük maliyetli, uzun raf ömürlü, spesifitesi ve sensivitesi yüksek olan ve sonucun hızlı alındığı yöntemdir. Bu yöntemde yüksek seçiciliğe sahip antijen-antikor reaksiyonu kullanılması nedeniyle doğruluk oranı %98'in üzerine çıkmaktadır (Kaya ve ark., 2014). Dezavantajları; tam bir kantitatif uygulamaya sahip değildir. Hekimler arasında yorumlanma farkı vardır. Sadece sıvı örnekler için kullanılabilir. (An ve ark., 2008; ,Kaya ve ark., 2014)

2.2.4.1. Laboratuvar Bulguları

2.2.4.1.1. Hematoloji

Virüs, kemik iliği, timus ve diğer lenfoid dokuların aktif olarak çoğalan hücrelerine saldırdığı için, toplam beyaz kan hücresi sayımı ve lökonötropeni varlığının daha önce CPV'li hastalarda ayırt edici bir özellik olduğu düşünülmüştür (Castro ve ark., 2013).

Hastalığın başlangıcından itibaren 72-80 saat içinde nötropeni ve/veya lenfopeniyle beraber lökopeni tablosu şekillenir. Bu parvoviral enteritis için en belirgin tablodur. Lökopeninin nedeni kandaki nötrofillerin yıkımlanmasıdır. Kemik iliği, lenf nodülleri ve dalak gibi diğer lenfoproliferatif organlarda çeşitli lökosit tiplerinin oluşumunu sağlayan progenitor hücreler yıkımlanır. CPV'li köpeklerde sitopeni, özellikle de lökopeni ve lenfopeni gelişir. Enfeksiyonun başlangıcından itibaren ilk 24 saatinde bu tablonun düzeltilmesi hastalığın prognozunda çok önemli katkı sağlar. İyileşen hastaların kanındaki lenfosit düzeyinin enfeksiyonun başlangıcından itibaren 24 saat içinde tekrar normal aralıkta olduğu tesbit edilmiştir (Goddard ve ark 2008).

Lenfopeni, CPV ile enfekte olmuş köpeklerin yanı sıra köpek koronavirüsünden etkilenen köpek yavrularında da ortaya çıkabilir (Castro ve ark., 2013), bu nedenle,

etkilenen hastalarda CPV tanısını daha da desteklemek için diğer testlerle birlikte kullanılır. Hastalığın seyri sırasında sitopeninin varlığı, CPV'deki sonucu tahmin etmede faydalı olabilir. Bir çalışmada, CPV'li hayatta kalanlar ve hayatta kalanlar arasında nötropeni açısından anlamlı bir fark olmadığını belgelemiştir. Aynı çalışma, başvuru sırasında ve 48 saatlik hastanede yatış sırasında toplam lökosit sayısının 4500/ μ L'den yüksek ve lenfosit sayısının 1000/ μ L'den yüksek tutulmasının hayatta kalmayı güçlü bir şekilde desteklediği saptanmıştır (Goddard ve ark 2008). CPV'de sıkça gözlenen diğer bir bulgu da anemi ve trombositopenidir. Özellikle enfeksiyonun ilerleyen safhalarında bu tablo ile çok sık karşılaşılır.

Tablo 2. CPVli 76 köpekte hematolojik anormallikler (Kalli ve ark., 2010)

Anormal Hematolojik Bulgu	Köpek Sayısı/İncelenen Köpek Sayısı (%)
Anemi	11/75 (14)
Lökopeni	26/75 (35)
Lökositoz	6/75 (8)
Trombesitopeni	6/75 (8)
Trombositoz	24/75 (32)
Nötropeni	24/61 (39)
Nötrofili	12/61 (20)
Lenfopeni	37/61 (61)
Lenfositoz	2/61 (3)
Monositopeni	16/61 (26)
Monositoz	16/61 (26)

2.2.4.1.2. Serum Biyokimya

CPV hastalığında enfeksiyona bağlı biyokimyasal parametrelerde meydana gelen değişiklikler nonspesifiktir. Albümin ve diğer protein düzeylerinde azalan bir tablo görülür.

Serum biyokimyada gözlenen anormallikler, yetersiz beslenme, sepsisemi ve/veya kateşolaminlerin yansıtan hipoproteinemi tablosu, hipoalbüminemi, hipoglisemi veya hafif-orta derecede hiperglisemi içerir ve hipokalemi gibi elektrolit anormallikleri de

gözlenir. Hiponatremi, hipokloremi ve hipomagnezemi bozukluklarıyla beraber seyreden serum biyokimya tablosu da görülür (Macintire ve ark., 1997; Kalli ve ark., 2010; Li ve Humm, 2015).

Tablo 3. CPVli 76 köpekte serum biyokimyasal anormallikler (Kalli ve ark., 2010)

Anormallik	Köpek Sayısı/İncelenen Köpek Sayısı (%)
Hipoproteinemi	20/73 (27)
Hiperproteinemi	3/73 (4)
Hipoalbüminemi	11/34 (32)
Hiperglisemi	21/31 (68)
Hiperkreatinemi	1/47 (2)
Artan üre azotu	2/40 (5)
Artmış ALP	11/41 (27)
Artmış ALT	5/48 (10)
Hiperbilirubinemi	2/24 (8)
Hiperfosfatemi	5/25 (20)
Hipokalemi	5/54 (9)
Hiperkalemi	1/54 (2)
Hiponatremi	14/25 (56)
Hipokalsemi	13/38 (34)
Hiperkalsemi	3/38 (8)

Yaygın olarak CPV ile enfekte olmuş köpeklerde çeşitli klinikopatolojik biyobelirteçleri araştırılmıştır. Diğer kritik hastalıklarda gözlemlendiği gibi, CPV ile enfekte olmuş hayvanlar, artan stres tepkisine ve kortizol konsantrasyonlarına sahiptir ve hastanede 24 ve 48 saat içinde mortaliteyi öngörebilen ötiroid hasta sendromu geliştirir (Schoeman ve ark., 2007; Schoeman ve ark., 2008).

Doğal olarak oluşan enfeksiyonda, hayvanın nötropenik olduğu süre boyunca endojen köpek granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) düzeylerinin arttığı bulunmuştur (Cohn ve ark., 1999). C-reaktif protein (CRP), (Kocatürk ve ark., 2010; McClure ve ark.,

2013) toplam kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein, serum trigliserit (Yılmaz ve Şentürk, 2007) lipid peroksidaz, çinko (Panda ve ark., 2009) pankreatik lipaz ve plazma sitrülün seviyelerinin (Dossin ve ark., 1997; Kalli ve ark., 2017) CPV enfeksiyonuna yanıt olarak değiştiği belgelenmiştir. Testler, morbidite veya mortaliteyi tahmin etmede tek başına yararlı değildir (Kocatürk ve ark., 2010; McClure ve ark., 2013). İnflamatuar biyobelirteçlerin yanı sıra vasküler endotel hasarı, sistemik inflamasyon, pıhtılaşma aktivasyonu ve hipovolemi, hastaları sıklıkla hiper pıhtılaşma durumuna yatkın hale getirir (Otto ve ark., 2000). Bu olasılık, intravenöz (IV) kateterlerin idamesinde ve tromboflebit gelişiminde bir faktör olabilir ve en ciddi vakalarda uç organ hasarına katkıda bulunabilir.

2.2.5.Tedavi

CPV tedavisi büyük ölçüde destekleyici ve semptomatiktir. Uygulanacak tedavinin ana bileşenleri; sıvı tedavisi, antibiyotik tedavisi, antiemetik tedavi, immun sistem destekleyicileri ve beslenme desteği olmak üzere beş adımdan oluşmaktadır.

2.2.5.1. Sıvı Tedavisi

CPV’de hidrasyon ve onkotik desteğin yanı sıra asit-baz ve elektrolit bozukluklarının düzeltilmesi çok önemlidir (Lobetti ve ark., 2002).

Şiddetli hipovolemili köpek yavrularının 1-2 saat içinde dolaşım hacminin yeniden sağlanması gerekir. Kural olarak, dengeli bir izotonik kristalloid solüsyon (örneğin Laktatlı Ringer veya %0,9 NaCl), damar içi hacmin ve kaybolan hidrasyonun eski haline gelmesi için tercih edilebilir. Tipik olarak ilk 15 dakika perfüzyon durumunda iyileşme sağlanana kadar şok dozu (80-90 mL/kg), verilir daha sonra 15-20 mL/kg’lık ardışık boluslar halinde azaltılır. (Anastasio ve ark., 2014). Hipovolemik şok kanıtı olmayan köpeklerde, hidrasyon 12-24 saat içinde geri yüklenebilir. Günlük idame sıvı gereksinimi 40-60 mL/kg oranda verilebilir (Davis ve ark., 2013; Anastasio ve ark., 2014).

Parvoviral enterit, büyük protein kayıplarına neden olabilir. Bu nedenle, periferik ödem (deri altı, konjonktival, pleural veya abdominal efüzyonlar), hipoalbuminemi (<2 g/dL) veya hipoproteinemi (<4 g/dL) oluştuğunda kolloidal destek sağlanmalıdır (Prittie, 2004; Davis ve ark., 2013). Sentetik kolloidler (örneğin, %70 dextran), daha iyi onkotik destek sağladıklarından (günlük kristalloid hacminde %40-60’lık bir azalmaya izin

vererek) klinik ortamda kullanılabilir. (Prittie, 2004) Sentetik kolloidler günlük idame olarak 20 mL/kg dozda kullanılabilir.

Hipokalemi, parvoviral enteritde sık görülen bir sorundur ve zayıflık, ileus ve kardiyak etkiler ile sonuçlanabilir. Tipik olarak idame sıvıları, normokalemiyi sürdürmek veya hipokalemiyi eski haline getirmek için ≥ 20 mEq/L potasyum klorür ile desteklenmelidir (Kalli ve ark., 2010).

2.2.5.2. Antibiyotik Tedavisi

Mukozal bariyerin bozulmasıyla ilişkili yüksek septisemi riski ve eşzamanlı derin nötropeni nedeniyle CPV teşhisi koyulan köpeklerde geniş spektrumlu bakterisidal antibiyotiklerin parenteral uygulaması önerilir (Turk ve ark., 1990; Prittie, 2004). Ampisilin ve seforoksitin tek ajan tedavileri olarak veya enrofloksasin ile kombinasyon halinde gram pozitif, gram negatif ve anaerobik organizmalara karşı koruma sunan rasyonel ampirik seçimlerdir (Prittie, 2004; Abrams-Ogg ve ark., 2012). Enrofloksasin, büyüyen genç köpeklerde kıkırdak hasarına neden olabilir; ancak standart dozlar kullanılıyorsa ve tedavi süresi 5 günü geçmiyorsa bu durumun gelişme ihtimali çok düşüktür (Abrams-Ogg ve ark., 2012).

Tablo 4. CPV tedavisinde kullanılan bazı antibiyotikler

İlaç	Doz ve Aralık	Veriliş Şekli
Ampisilin	20-40 mg/kg 8 saat	SC
Seforoksitin	20-30 mg/kg 8 saat	IV
Enrofloksasin	5-10 mg/kg 24 saat	SC

2.2.5.3. Antiemetik Tedavi

Kemoreseptör tetik bölgesini bloke eden ve üst bağırsak yolunda prokinetik bir etki gösteren bir dopaminerjik antagonist olan metoklopramid HCl (0.5mg/kg), şiddetli kusması olan köpeklerde bolus veya sabit hızlı infüzyon şeklinde verilebilir. Nörokinin-1 reseptörlerinin bir antagonisti olan maropitant sitrat monohidrat (1mg/kg), köpeklerde antiemetik tedavinin etkinliğini önemli ölçüde iyileştirmiştir.

Bir çalışmada, köpeklerde çeşitli etiyolojilerin neden olduğu kusmanın tedavisinde günde tek doz maropitant, günde iki veya üç kez uygulanan metoklopramidten daha etkili olduğu gözlenmiştir (De La Puente ve ark., 2007).

Başka bir çalışmada, 275 köpekte (%26'sına CPV'li) çeşitli etiyolojilere bağlı akut kusmanın tedavisinde ve önlenmesinde maropitant güvenlik ve etkinlik açısından değerlendirilmiştir. Bu çalışmada kusmanın azaltılması, CPV'li köpeklerin alt grubu için ayrı olarak değerlendirilmemiş olsa da, genel olarak, maropitant ile tedavi edilen köpeklerde kusmanın önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir (Ramsey ve ark., 2008).

Maropitantın günde bir kez, tek başına veya metoklopramid ile kombinasyon halinde uygulanması, CPV'de kusmayı azaltmada veya ortadan kaldırmada çok etkili olduğu saptanmıştır. Genel olarak maropitant ile tedavi edilen köpekler, enjeksiyon bölgesinde geçici ağrı sergileyebilir ve bu ağrı enjeksiyondan önce oda sıcaklığında saklanmak yerine buzdolabında tutulursa büyük ölçüde azalabilir (Ramsey ve ark., 2008; Narishetty ve ark., 2009).

2.2.5.4. Antiviral Tedaviler

Yapılan bir çalışmada rekombinant feline interferon omega'nın (rFeIFN- ω) CPV tedavisinde sonuç verdiği saptanmıştır. CPV teşhisi konulan 94 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada rFeIFN- ω (2.5 mU/kg, intravenöz, 3 gün boyunca günlük) ile tedavi edilenlerde klinik belirtilerin şiddeti ve mortalitenin önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir (De Mari ve ark., 2003).

Bir nöraminidaz inhibitörü olan oseltamivir, CPV tedavisi için dikkat çekmiştir. Daha önceki bir çalışmada oseltamivir (5 gün boyunca 2 mg/kg) ile tedavi edilen köpeklerde vücut ağırlığını ve hematolojik parametreleri iyileştirmiştir ancak hayatta kalma veya hastanede kalış süresi açısından hiçbir somut veri saptanamamıştır (Savigny ve Macintire, 2010).

2.2.5.5. Gıda Desteği

On iki saat sonra başlayan nazoözofageal kateter yoluyla erken enteral beslenmenin, adlibitum beslenmeye tabi olan köpeklerle kıyasla daha erken klinik iyileşme, önemli oranda kilo artışı ve gelişmiş bağırsak bariyer fonksiyonu ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. 12 saat boyunca kusmanın kesilmesine kadar hastalığın akut seyri nedeniyle CPV'de parenteral beslenmeye nadiren ihtiyaç duyulur (Mohr ve ark., 2003).

2.2.6. Koruma

CPV enfeksiyonundan korunmada en etkili yol immunizasyonun sağlanmasıdır. Hayvanın sahip olduğu serum antikor düzeyi ne kadar yüksekse immunité o kadar güçlü olur. Köpeklerde maternal antikorlar anneden yavruya plasenta ve kolostrum yoluyla aktarılır. Bu maternal antikorlar yavrunun korunmasında önemli role sahiptir. Hemaglutinasyon inhibisyon antikor testlerine göre yavrular parvoviral enteritise karşı antikorların %90'ını kolostrum yoluyla alırlar (Pollock ve Carmichael 1982). Parvoviral enteritiste antikorlarının plasenta aracılığı ile az miktarda aktarılmasına rağmen, aşıllı annelerden doğan yavrular kolostrum almasalar dahi parvoviral enteritis enfeksiyonuna karşı birkaç hafta immunizasyon sağlayacak kadar antikor oranına sahip olurlar (Waner ve ark 1996). Annedeki kolostrumun titresi ile yavruların alacağı maternal antikor miktarı doğru orantılıdır. Her bir yavruya düşen kolostrum miktarı o batında doğan yavru sayısı ile ters orantılı olacak şekilde değişmektedir. CPV antikorlarının yarı ömrü ortalama 7-9 gündür. Parvoviral enteritis hastalığını atlatıp iyileşen köpeklerde oluşan doğal antikorlar enfeksiyondan sonra 16 aya kadar immunité sağlayabilir (Goddard ve Leisewitz 2010).

Aşıllama ile evcil hayvanın korunması ve bölgedeki duyarlı hayvan popülasyonunun azaltılması, böylece "sürü bağışıklığının" dengelenmesi için şarttır (Day ve ark., 2016). Canlı aşılar şu anda dünya çapında kullanılmaktadır hem hastalığa hem de enfeksiyona karşı koruma sağlayacak uzun süreli (7 yıl veya daha uzun) bağışıklık sağlar. (Twark ve Dodds, 2000; Schultz ve ark., 2010) İlk köpek aşıllama serisi normal olarak 6-8 haftalıkken ve ardından 16 haftalık veya daha büyük olana kadar her 2-4 haftada bir başlar (Day ve ark., 2016). Köpek 16 haftalıktan sonra ilk aşılar için kabul edilirse, genellikle 2-4 hafta arayla iki doz önerilir, ancak bir doz karma aşı bile büyük olasılıkla koruyucudur (Schultz ve ark., 2010).

Barınak ortamında daha sıkı bir aşıllama programı uygulanabilir. CPV aşıları (diğer temel aşılarla birlikte) 4 haftalıkken hemen kabul edilebilir ve hayvan hala barınakta ise 20 haftalık olana kadar 2 ila 3 haftalık aralıklarla tekrarlanabilir. 16-20 haftadan büyük köpekler için kabulden önce veya hemen sonra bir doz ve iki hafta sonra tekrarlanması önerilir (Day ve ark., 2016).

Aşıllamanın ötesinde sağlık hizmetleri de her önleme stratejisinin ayrılmaz bir parçasıdır. Virüsün ortamdaki son derece dayanıklı yapısı göz önüne alındığında, tüm

maruz kalan yüzeylerin ve personelin dezenfeksiyonu dahil olmak üzere kulübelerdeki iyi hijyen uygulamaları önemlidir. Sodyum hipoklorür (genel ev tipi ağartıcı), temas süresinin en az 10 dakika olması şartıyla etkili bir virüs öldürücüdür.

2.2.7. ESM1/Endocan ve önemi

İnsan endotelyal hücre spesifik molekül [endothelial cell-specific molecule 1 (ESM-1)] olarak bilinen endocan ilk olarak 1996 yılında insan endotelyal hücrelerinden klonlanmıştır (Lassalle ve ark., 1996). Beşinci kromozomun uzun kolunda 3 exon ve araya giren 2 introndan meydana gelir. Tek gen tarafından kodlanmaktadır. Primatlar ve memelilerde yüksek derecede korunmuş bir gene sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan diğer çalışmalar molekülün proteoglikan ailesinin üyesi olduğunu ortaya çıkarmıştır. Protein yapıdaki merkez kısım 165 amino asit içermektedir. 137. pozisyonundaki serin amino asitine translasyon sonrası modifikasyon ile bağlı tek dermatan sülfat bulunmaktadır. N-terminal sisteinden zengin 110 amino asit içeren kısım ve C-terminal sisteinden fakir kısım olmak üzere iki ana bölümden oluşmaktadır (Sarrazin ve ark., 2010a). Hücre dışı yatağın diğer elemanları gibi hücrelere yapısal destek olmanın ötesinde endocan, temelde sekretuar bir moleküldür (Scherpereel ve ark., 2006).

Akut enfeksiyon tablosunda lökosit yüzeyinde adezyon moleküllerinin ortaya çıkar. Bu durum da lökositlerin damar cidarından enfeksiyon bölgesine göçlerini daha kolay hale getirir. Endocan, akut enfeksiyonlarda lökositlerin migrasyonu ve göçünü engeller. Bu mekanizma özetle şu şekildedir: Endocanın lökosit yüzeyinde bulunan lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1 (LFA-1) ile bağlanır. Bu bağlanma endotelyal yüzeyde bulunan ligandlar ile etkileşimi keser. Böylece, lökositlerin endotel yüzeyde yuvarlanmaları ve periferel dokulardan inflamatuvar bölgelere transmigrasyonu önlenmiş olur (Bécharde ve ark., 2001b). Bu yüzden; Endocan endotel bağımlı patolojik hastalıklarda rol oynayabilir (Zhang ve ark., 2012).

Endocanın mitojenik özellikleri ile ilgili çalışmalar da vardır. Endotel hücrelerinde Endocan vasküler endotelyal büyüme faktörünün (vascular endothelial growth factor (VEGF)) mitojenik etkisini arttırmaktadır (Rennel ve ark., 2007). Endocan hücre proliferasyonu, yara iyileşmesi ve tümör ilerlemesi gibi durumlarda diğer mediatörler ile birlikte rol almaktadır.

Endotel hücreleri sepsis patogeneğinde önemli bir role sahiptir. Endotelden salınan Endocanın (endotel hücre spesifik molekül-1), insanlardaki sepsis çalışmasında düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği ayrıca endotel disfonksiyonunu, multiorgan yetmezliğini ve sepsisteki sağaltımı göstermede iyi bir biyobelirteç olduğu kanıtlanmıştır (Büyüktiryaki ve ark., 2017). Endotel hücre spesifik molekülü-1 (ESM-1) olarak da adlandırılan Endocan, başlıca akciğer damar sisteminden eksprese edildiği gösterilmiştir. Yapısal olarak, Endocan / ESM-1, ICAM-1 ve LFA-1 integrinleri ile etkileşime girebilen ve dolayısıyla yangısal olayları önleyen 50 kDa'lık bir proteoglikandır. Vasküler endotelin; iltihaplanma, pıhtılaşma, anjiyogenez ve tümör invazyonunda, öncelikle reseptör/ligand etkileşimlerinin ayarlanması ile ve farklı mediyatörlerin sekresyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Endocan sağlık ve hastalıkta vasküler doku gelişiminde rol oynamaktadır. Endocan çözünebilir bir proteoglikan (50 kDa) 'dır. Dolaşımda tespit edilebilir ve anjiyogenezin ve endotel hücre aktivasyonunun bir göstergesidir (Sarrazin ve ark., 2006). Ayrıca hücre yapışması, göç, proliferasyon ve neovaskülarizasyona katılan biyolojik süreçlerin düzenlenmesi için gerekli biyolojik olarak aktif yöntemlerin geniş bir yelpazesıyla moleküler etkileşimlere katılabilir (Kali ve Shetty, 2014). Endocanın vasküler hastalıkların, inflamasyonun ve endotel disfonksiyonunun patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. Endocan vasküler endotel hücreler tarafından, özellikle de yangısal endotelden salgılanır. Tek başına veya diğer biyolojik belirteçlerle birlikte serum Endocan düzeyleri, bazı kanserler (örneğin beyin, akciğer, karaciğer ve böbrek), sistemik inflamasyon ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere farklı koşullar için belirteç olarak bildirilmiştir (Kali ve Shetty, 2014). Serum Endocan değerleri hastalığın şiddetine bağlı değişim gösterir (Scherpereel ve ark., 2006; Balta ve ark., 2013; Balta ve ark., 2014). Araştırmalar, tümör progresyonu sırasında ve inflamatuvar hastalıklarda plazmada artmış Endocan düzeylerinin endotel hücre aktivasyonu veya disfonksiyonunun potansiyel bir göstergesi olabileceğini göstermiştir (Delehedde ve ark., 2013). Son epidemiyolojik kanıtlar Endocanların endotel disfonksiyonunun inflamatuvar bir belirteci olduğunu ortaya koymaktadır (Balta ve ark., 2015).

Endotel hücreleri tarafından eksprese edilen sistein bakımından zengin bir dermatan sülfat proteoglikan olan Endocan, endotel disfonksiyonu için yeni bir biyobelirteç olabileceği ifade edilmektedir. Parvoviral enteritisli hastalarda dissemine intravaskular

koagulasyon (DIC) olmaksızın yüksek koagulasyon bulgusunun varlığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Bu durumun endotelial hücreler üzerine endotoksin veya sitokin aracılı prokoagulant etki ile şekillendiği düşünülmektedir. Anti-trombinin gastrointestinal kanal aracılığı ile kaybı, anti-trombinin tüketimine neden olan endotoksin nedenli aktif koagulasyon ve hiperfibrinojenemi köpek parvoviral enteritisinde görülen hiperkoagulasyon oluşumuna katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Myeloproliferatif hücrelerin ölümü ve timik lenfositosis immünsüpresyona neden olur. Hasarlı bağırsak duvarı ve villus atrofişi nedenli malabsorbsiyon; sıvı ve protein kaybının devamına, bakteriyel sepsis ve endotoksemiye neden olur. Bu tablo da hızlı bir şekilde şok ve ölüme yol açabilir. Miyokardit ve pnemoni görülebilen diğer semptomlardır. Bu nedenle Endocan gibi damar endotelinden köken alan bir biyobelirtecini parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde koagulopati ve sepsis gibi nedenlerle kandaki düzeylerinin artması beklenebilir. Ayrıca bu projenin kapsamı içerisinde ilgili parametrenin parvoviral enfeksiyon gibi sistemik hastalıklı köpeklerde teşhis ve prognozdeki etkinliğinin ortaya konulması önemli bir gelişme olacaktır.

Naseri ve ark.'nın (2020) CPV'li köpeklerde eGCX'in serum biyobelirteçlerini kullanarak eGCX hasarının varlığını belirlemeyi, hayatta kalan ve ölenlerin prognostik önemini değerlendirmeyi amaçladığı bir çalışmada eGCX hasarını saptamak için serum endotelial hücreye özgü molekül-1 (ESM-1), syndecan-1 (SDC-1), anjiyopietin-2 (Ang-2) ve heparan sülfat (HS) seviyeleri ölçüldü. Endocan düzeylerinin, sağlıklı köpeklere kıyasla CPV'li köpeklerde daha yüksek olduğunu gösterildi. Ayrıca ölen köpeklerde yüksek endocanın saptanmasının CPV'li köpeklerde mortaliteyi tahmin etmek için bazı prognostik faydalar taşıyabileceği de öne sürülmüştür (Naseri ve ark., 2020).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı Küçük Hastanesine tedavi amacıyla getirilen sahipleri tarafından çalışmaya katılma onayı alındıktan sonra parvoviral enteritis tanısı konulan ve sağlık kontrollerinde sağlıklı olduğu belirlenen köpeklerden elde edilen kan numuneleri ve hayvanlara ait veriler kullanıldı. Çalışma öncesi Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na (EÜHADYЕК) başvurulmuş ve hayvan deneyleri yerel etik kurulu tarafından verilen 18/008 sayılı kararı ile çalışma gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hayvan Materyali

Tez projesi; çalışma ve kontrol grubu olmak üzere 2 grup köpekten elde edilen kan örneklerinden hematolojik ve biyokimyasal analizlerin yapılmasını kapsamaktadır. Gruplar çalışma ve kontrol gruplarıdır. Çalışma grubunda 40 adet Akut Parvoviral enteritisli köpeğin kan örnekleri toplandı. Örnekler ERÜ Veteriner Fakültesi ve/veya Kayseri ili ve civarındaki özel veteriner kliniklerine getirilen çeşitli ırk köpeklerden elde edildi. Kontrol grubu kan örnekleri ise yine aynı süre içerisinde kontrol amacıyla kliniğe getirilen ve tamamen sağlıklı olduğu belirlenen 20 adet köpekten elde edilmiştir.

Köpeklerde 6 haftalık yaştan sonra parvovirusun neden olduğu ve parvoviral enfeksiyon olarak bilinen hastalığın genel klinik belirtilerinden olan; anoreksi, kusma, ishal (sıkça hemorojik) ve letarji belirtileri gösteren; dehidrasyon, ateş ve solgun müköz membranları bulunan köpekler bu araştırmaya dahil edildiler. 4-6 haftadan önceki yaşlar da enteritisten daha çok solunum güçlüğü (dispne) ve myokarditis nedeniyle ani ölüm geliştiği için bu köpekler araştırma dışı bırakılmıştır. Altı haftalıktan sonra yukarıdaki klinik belirtilerle birlikte leukopeni, anemi, panhipoproteinemi ve hipoglisemi gibi laboratuvar bulguları olan köpekler bu araştırma kapsamına alınmıştır.

Çalışma grubunda ortalama 6-9 ay arasında, farklı ırklarda (Golden Retriever, Cocker Spaniel, Rottweiler, Mix(sokak köpeği), Kangal melezi, Terrier, Beagle, Cavalier King Charles, Border Collie) ve cinsiyette (E:24, D:16) akut parvoviral enteritisli köpekler, kontrol grubu kan örnekleri ise yine aynı süre içerisinde kontrol amacıyla kliniğe getirilen ortalama 5-8 aylarında, farklı ırklarda (Rottweiler, French Bulldog, mix(karma), kangal, Pomerian, Alman Çoban Köpeği, Belçika Malinos) ve cinsiyette (E:12, D:8) ve tamamen sağlıklı köpeklerdi.

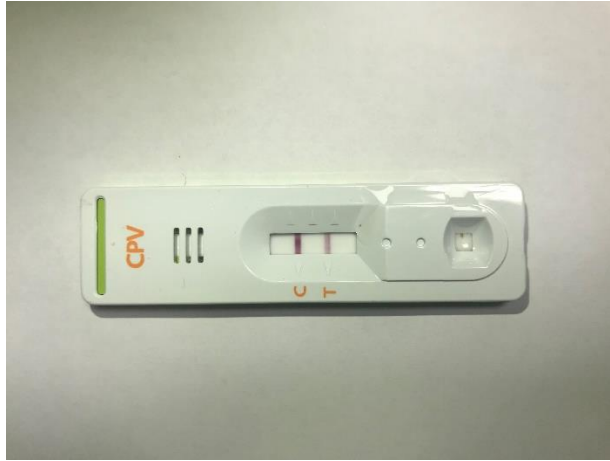
Kanlı ishal şikâyetiyle hayvan hastanesine başvuran, parvoviral enteritise ait klinik belirtileri gösteren, dışkı örneklerinde ticari parvovirus kiti ile pozitif oldukları belirlenen 6 haftalık ile 6 ay aralığındaki çeşitli ırklardaki köpekler çalışma grubunu oluşturdu. Hematolojik parametreler ve SNAP kit analizleri örneklerin alındığı gün yapıldı.

3.2. Klinik Belirtiler

ERÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar Kliniğine getirilen hasta hayvanlara ilk olarak klinik muayeneleri yapıldı. Beden ısısı, kalp ve solunum sayıları ölçüldükten sonra klinik olarak iştahsızlık, depresyon, durgunluk, kusma ve kanlı ishal semptomları gösteren hayvanlardan antikoagülanlı (EDTA) tüplere kan alınıp hematolojik analiz yapıldı ve CPV hastalığından şüphelenilen köpeklerden rektal swap ile dışkı örnekleri alındı ve örnekler parvovirus antijeni yönünden hızlı tanı testine (ASAN PHARM PARVO (CPV Ag), Güney Kore) tabi tutuldu. Test sonucu parvovirus antijeni yönünden pozitif olan hastalar tez çalışmasının çalışma grubuna dahil edildi. Hasta köpeklerden antikoagülanlı (EDTA) ve antikoagülanlı kan örnekleri alındı.

Sağlıklı köpekler rutin klinik, laboratuvar (hemogram) ve dışkı yönünden muayene edildi. Sağlıklı olarak değerlendirilen köpekler tez çalışmasının kontrol grubuna dahil edildi ve antikoagülanlı (EDTA) ve antikoagülanlı tüplere kan örnekleri alındı.

CPV Ag pozitif olan hastalar tedavi süresince diğer köpeklerden izole olması için karantina odalarında hospitalize edildi ve klinik olarak gözlem altında tutuldu.



Resim 1: CPV Pozitif Sonuç

3.3. Tedavi Protokolü

CPV Ag köpeklere sıvı-elektrolit, antiemetik, antibiyotik, kanama önleyici, probiyotik, vitaminler, aminoasitler ve hiperimmün serum tedavisi uygulandı. Sıvı-elektrolit tedavi, kan gazları sonucuna göre yapıldı. Günlük 40–60 ml/kg dozunda % 0,9 NaCl (İzotonik sodyüm klorür®, İ.E. Ulagay) uygulandı. Antibiyotik olarak enrofloksasin 5mg/kg/gün (Baytril-K %5®, Bayer) SC uygulandı.

Kusma önleyici olarak maropitant 1mg/kg/gün (Cerenia®, Zoetis) SC uygulandı. Kanama önleyici olarak K vitamini 2 mg/kg/gün (Hemadur-K®, Alke) SC, vitamin olarak askorbik asit 300 mg/kg/gün (Maxivit-C®, Bavet) IV, 50 mg/kg/gün tiamin ve 5 mg/kg/gün pridoksin (Nervit®, Vetaş) IV, aminoasit destekleri 10 ml/kg/gün (Duphalayte®, Zoetis) IV uygulandı. Probiyotik olarak *Saccoramyces boulardii* içeren ticari bir probiyotik (Reflor®, Biocodex) ½ paket günde iki defa oral yolla uygulandı. Hiperimmün serum olarak granülosit stimüle edici faktör olan filgrastim 10 mcg/kg/gün (Leucostim 30 MIU®, Dem İlaç) IV kullanıldı. 48 saat hasta aç bırakıldı yemeye başlayan köpeklere yüksek enerjili diyet verildi.

3.4. Yöntem

EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri alındığı gün hematoloji cihazında analiz edildi. Biyokimyasal analizler ise derin dondurucuda -20 °C de muhafaza edilerek serum örneklerinde analiz edildi. Kan C reaktif protein (CRP), IL-6 ve Endocan düzeyleri ise antikoagülanlı örneklerin plazmaları çıkarıldıktan sonra analiz edilinceye kadar

-20°C’de derin dondurucuda saklandı. Biyokimyasal analizler örnek toplama işlemi bittikten sonraki bir ay içerisinde tamamlandı.

3.4.1. Hematolojik analizler

Sağlıklı ve CPV pozitif olan köpeklerde yapılacak hematolojik analizler için, köpeklerin cephalic ven’den vakumlu EDTA’lı kan toplama tüplerine (BD, K3EDTA, 3.8 ml) kan örnekleri alındı. Alınan kan örneği laboratuvarında roller (Hemolab) ile 3 dk süreyle homojenize edildikten sonra Mindray BC2800 marka tam kan sayımı cihazı ile hematolojik analizlere tabi tutuldu.

3.4.2. Hızlı test kiti analizleri

Köpek parvovirusunun klinik belirtilerinin belirlenmesini takiben ticari test kitleri ile rektumdan alınan dışkı sürüntü örnekleri hasta başı hızlı tanı kitleri ile yöntemine uygun olarak test edildi. Bu amaçla; parvoviral enteritis enfeksiyondan şüphe edilen köpeklerden rektal swab yardımıyla ve doğrudan 5-10 gr dışkı örnekleri dışkı toplama kaplarına alındı (Dışkı Toplama Kabı, AYSET). Taze dışkı örneklerinden vakit geçirmeden swap yardımıyla alınan örnekler tampon solüsyonu ile homojen biçimde karıştırıldı. 4-5 damla kitin plastik pipeti yardımıyla kitin örnek penceresine 4-5 damla dışkı örneği damlatıldı. Daha sonra 10 dakika içerisinde gözle okuma penceresinde tek (negatif) ya da çift hat (pozitif) oluşumunun gözlenmesi ile değerlendirildi. Hızlı parvovirus antijen belirleme testi (CPV Ag testi, rapid test kit) ile 40 adet köpek CPV antijeni yönünden pozitif bulundu. (Fotoğraf-1)

3.4.3. Serum biyokimya analizleri

Kan CRP, IL-6, Endocan ve biyokimyasal analizleri için cephalic ven’den vakumlu, jelli kan toplama tüplerine (Hemolab BD, Süpersonik taşıma (SST) 6 ML) 5’er ml kan örneği alındı. Alınan kan örneği 15 dakika oda ısısında bekletildikten sonra santrifüj (Hettich, Zentrifugen) edilerek (3000xrpm, 15 dk) işlemi ile serumları çıkartıldı. Kan CRP, IL-6 ve Endocan ELISA testlerinin ölçümünde kullanılacak plazma ve serumlar her bir örnek için iki ependorf olmak üzere ve her bir ependorfda 500 µl plazma ve serum örneği olacak biçimde analiz işlemlerine kadar -20 °C de depolandı. Aynı serum örneklerinden BUN, Total Protein, GGT, Glukoz, Kreatinin, AST, ALP ve Albumin değerleri de Randox Monaco marka tam otomatik biyokimya analizörü ile analiz edildi.

3.4.4. ELISA Analizleri

Çalışma ve kontrol köpeklerden alınan serum örneklerinden CRP, IL-6, Endocan analizleri ticari test kiti kullanarak yapıldı. Kantitatif ELISA yöntemiyle test prosedürüne göre analiz edildi ve sonuçlar Biotek ELx800 ELISA cihazında 450 nm’de okundu.

3.4.4.1. Endocan analizleri

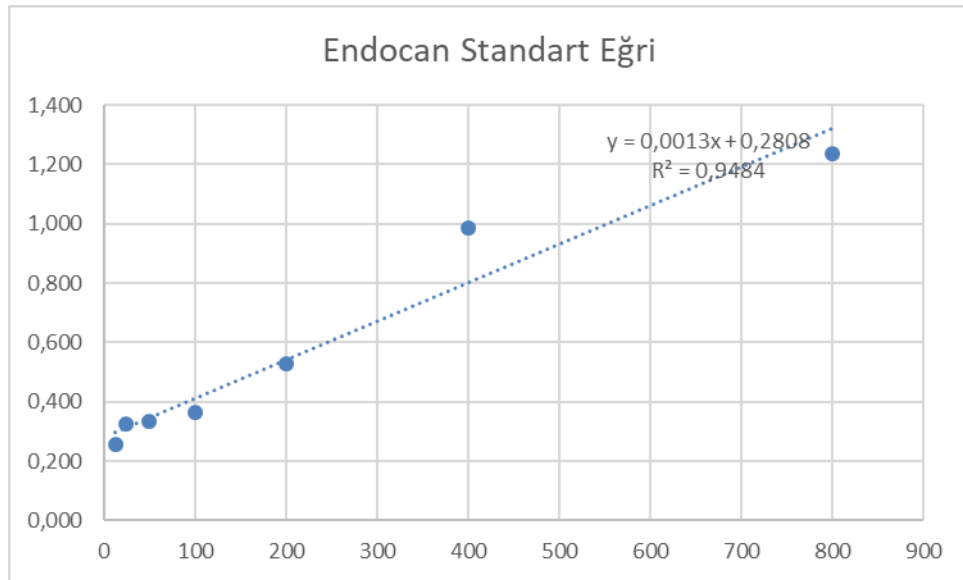
Standart Solüsyonun Hazırlanması:

Standart solüsyonu hazırlamak için original standart solüsyonundan 120 µl alınıp üzerine 120 µl standart dilüent ilave edilerek seri dilüsyonlarla final konsantrasyonu 50 µg/ml’e ayarlandı.

Testin Yapılışı:

Endocan analizleri kit içerisinde bulunan kullanım talimatına (SRB-T-87983/SunRedBio) uyularak yapıldı.

Endocan analizine ait standart eğri aşağıda görüldüğü şekilde oluşturuldu.



Şekil 1. Endocan analizine ait standart eğri grafiği

3.4.4.2. Serum C reaktif protein (CRP) analizleri

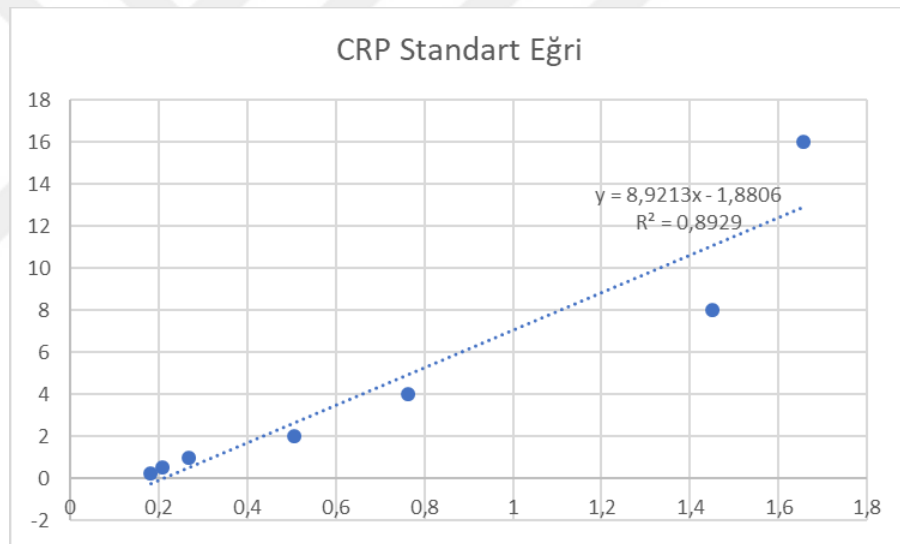
Standart Solüsyonun Hazırlanması:

Standart solüsyonu hazırlamak için original standart solüsyonundan 120 µl alınıp üzerine 120 µl standart dilüent ilave edilerek seri dilüyonlarla final konsantrasyonu 50 µg/ml'e ayarlandı.

TestinYapılışı:

CRP analizleri kit içerisinde bulunan kullanım talimatına (201-15-0161/SunRedBio) uyularak yapıldı.

CRP analizine ait standart eğri aşağıda görüldüğü şekilde oluşturuldu.



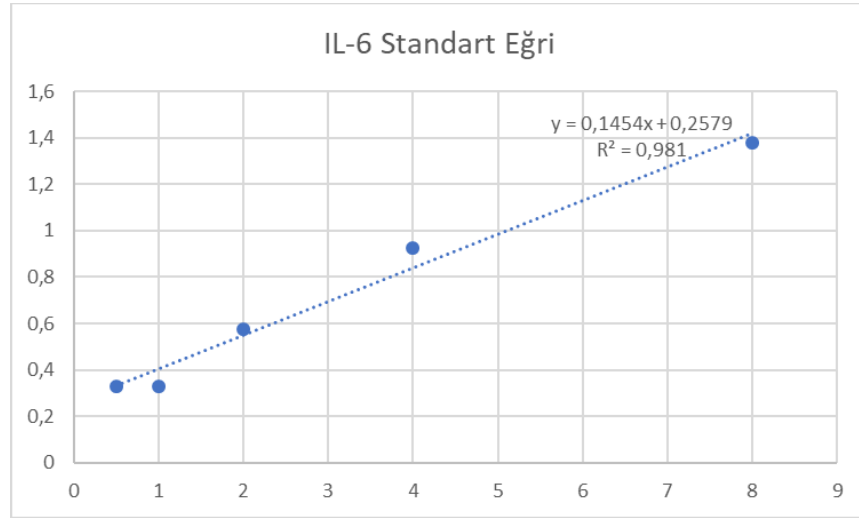
Şekil 2. CRP analizine ait standart eğri grafiği

3.4.4.3. Serum IL-6 analizleri

Standart Solüsyonun Hazırlanması: Standart solüsyonu hazırlamak için original standart solüsyonundan 120 µl alınıp üzerine 120 µl standart dilüent ilave edilerek seri dilüyonlarla final konsantrasyonu 50 µg/ml'e ayarlandı.

TestinYapılışı. IL-6 analizleri kit içerisinde bulunan kullanım talimatına (201-15-0128/SunRedBio) uyularak yapıldı.

IL-6 analizine ait standart eğri aşağıda görüldüğü şekilde oluşturuldu.



Şekil 3. IL-6 analizine ait standart eğri grafiği

3.4.4.4. İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel analizi Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows® version 25.0) paket programı ile yapıldı. Elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluk gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Ayrıca varyansların homojenliği Levene testi ile kontrol edildi. Sağlıklı ve parvovirüs köpeklerden alınan serum ve plazma örneklerinden yapılan analizlerde Endocan düzeyleri ile diğer yangısel faktörler bakımından istatistiksel önem Student t testi ile belirlendi. Parvovirüs ve sağlıklı köpeklerde Endocan düzeylerine göre hastalığın sensitivitesi ve spesifitesi hesaplandı. Bu köpeklerde Endocan eşik değerinin belirlenmesi için ROC eğrisi analizi yapıldı. Endocan'ın Parvoviral enfeksiyonların patogeneğinde rol alan bir biyobelirteç olup olmadığı ve köpeklerde infeksiyöz durumların takibi için kullanılan CRP düzeylerine göre muhtemel avantaj ve dezavantajları araştırmak amacıyla pearson korelasyonu uygulandı. Normal dağılım göstermeyen veriler ise Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi. $P < 0.05$ düzeyindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ve ortanca (25th-75th percentile) şeklinde verildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışma grubunu oluşturan köpeklerde durgunluk, depresyon, hipertermi (10 vaka), letarji, kusma, diyare ve hemorajik diyare gözlemlendi. Ayrıca tedavinin ikinci gününden itibaren kanlı ishal görülmeyen vakalarda kanlı ishal de görüldü.

Tedavinin ilk günü uygulanan ilaçlardan sonra hastaların bazılarında (25 adet) kusma sıklığında azalma gözlemlendi. Nispeten ishalde azalma ve çevreye olan ilgilerinde artma gözlemlendi. Hastalara üçüncü günden itibaren yüksek enerjili diyetli beslenme yapıldı. Bazı hastalar tedaviye 72. saatin sonunda cevap vermeye başladılar ve iştah geri geldi ve yüksek enerjili diyetle ancak o zaman geçilebildi. Çalışma grubundaki 11 köpekte tedaviye rağmen düzelme görülmedi ve hastaneye getirilmelerinden sonraki 1. ve 2. günlerde eks oldular.

4.2. Vital Bulgular

Parvovirüs enfeksiyonu olan çalışma grubu köpeklerde ortalama vücut sıcaklığı sağlıklı köpeklerden istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (<0.001). Çalışma grubunun ortalama nabız sayısı kontrol grubundaki hastalardan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0.001$). Çalışma grubunun ortalama solunum sayısı kontrol grubundaki köpeklerin ortalama solunum sayısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (<0.001).

Tablo 5. Çalışma ve kontrol grubunun ortalama vital bulguları

Parametre	Çalışma Grubu (n=40)	Kontrol Grubu (n=20)	p değeri
Vücut Sıcaklığı	39.04 ± 0.56	37.76 ± 0.15	<0.001
Nabız Sayısı	127.39 ± 2.91	123.60 ± 3.74	0.004
Solunum Sayısı	26.95 ± 3.85	21.20 ± 2.52	<0.001

4.3. Hematolojik analiz bulguları

Çalışma ve kontrol grubunun ortalama hematolojik analiz bulgularında birtakım farklılıklar belirlendi (Tablo 7) WBC, LYM, MON, GRAN, RBC, HGB, HCT, PLT ve EOS değerleri verildi. Bu ortalama değerler açısından çalışma grubunda elde edilen düzeylerin kontrol grubuna göre düşük seyrettiği belirlendi. WBC, MON ve GRAN değerlerinin ortalaması CPV'li köpeklerde istatistiki açıdan anlamlı oranda düşük ve PLT değerlerinin ortalamasının istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek olduğu belirlendi

Tablo 6. Çalışma ve kontrol grubunun ortalama hematoloji bulguları

Parametre	Çalışma Grubu (n=40)	Kontrol Grubu (n=20)	p Değeri
WBC (10 ⁹ /L)	7.26 ± 6.92a	11.64 ± 3.60b	0.027
LYM (10 ⁹ /L)	2.68 ± 4.05a	2.92 ± 2.81b	0.851
MON (10 ⁹ /L)	0.34 ± 0.22a	0.75 ± 0.45b	0.028
GRAN (10 ⁹ /L)	4.10±3.88a	7.54 ± 2.44b	0.020
RBC (10 ¹² /L)	6.02 ± 1.05a	6.37 ± 1.29b	0.434
HGB (g/dl)	12.72 ± 2.37a	14.02 ± 4.46b	0.292
HCT (%)	37.68 ± 7.53a	41.91 ± 10.67b	0.215
PLT (10 ⁹ /L)	473.09 ± 22.68a	250.77 ± 103.53b	0.007
EOS (10 ⁹ /L)	4.39 ± 3.29a	3.64 ± 4.19b	0.608

4.4. Serum Biyokimya analiz bulguları

Çalışma grubuna ait biyokimyasal analiz bulguları Tablo-7’de verildi. Buna göre elde edilen bazı ortalama biyokimyasal değerlerin köpekler için bildirilen referans aralıklarının dışında olduğu saptandı. Referans aralıklarından sapma gösteren bu değerler; total protein, glukoz, kreatinin, ALP ve ALB idi. Belirlenen biyokimyasal değişiklikler; hipoproteinemi, düşük kreatinin, hiperglisemi, ALP aktivitesinde artış ve ALB’de düşüklük olarak kaydedildi.

Tablo 7. Çalışma grubunun ortalama serum biyokimya değerleri değerleri ile referans aralıkları

Parametre	Çalışma Grubu n=40	Referans Aralığı (Latimer KS;2011; Harvey, Bruss;2008)
BUN (mg/ dL)	15.34 ± 8.72	8–28
Total Protein (g/dL)	3.97 ± 1.19	5.4-7.5
GGT (IU/L)	7.60 ± 2.48	1-10
Glukoz (mg/dL)	124.31 ± 22.66	76-119
Kreatinin (mg/dL)	0.36 ± 0.16	0.5-1.7
AST (IU/L)	39.35 ± 22.88	10-88
ALP (IU/L)	260.31 ± 129.30	1-114
ALB (g/dL)	2.76 ± 0.70	2.3-3.1

Tablo 8. Gruplar arası Endocan, IL-6 ve CRP konsantrasyonlarının karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol Grubu (n=20)	Çalışma Grubu (n=40)	p Değeri
Endocan (ng/L) [#]	11.92 (10.32-13.58) A	68.07 (17.30-115.55) B	<0.001
CRP (mg/L) ^{##}	2.24 ± 0.66 A	20.87 ± 6.34 B	<0.001
IL-6 (pg/ml) ^{##}	1.07 ± 0.61 A	2.32 ± 0.84 B	0.010

[#]Veriler ortanca (25. ve 75. yüzdeler) olarak ifade edildi. ^{##}Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. A, B: farklı harfler gruplar arası farkı ifade eder.

Çalışma grubunun ortanca Endocan konsantrasyonu [68.07 (17.30-115.55)] kontrol grubundan [11.92 (10.32-13.58)] istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.001$). Çalışma grubunun ortalama IL-6 düzeyi (2.32 ± 0.84) kontrol grubundan (1.07 ± 0.61) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P=0.010$). Çalışma grubunun ortalama CRP konsantrasyonu (20.87 ± 6.34) kontrol grubundan (2.24 ± 0.66) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.001$) (Tablo 8).

Tablo 9. Korelasyon analizi sonuçları

	Endocan (ng/L)	CRP (mg/L)	IL-6 (pg/ml)
Endocan (ng/L)	r=1.000 -	r=0.595 P=0.002	r=0.597 P<0.001
CRP (mg/L)	r=0.595 P=0.002	r=1.000 -	r=0.507 P=0.004
IL-6 (pg/ml)	r=0.597 P<0.001	r=0.507 P=0.004	r=1.000 -

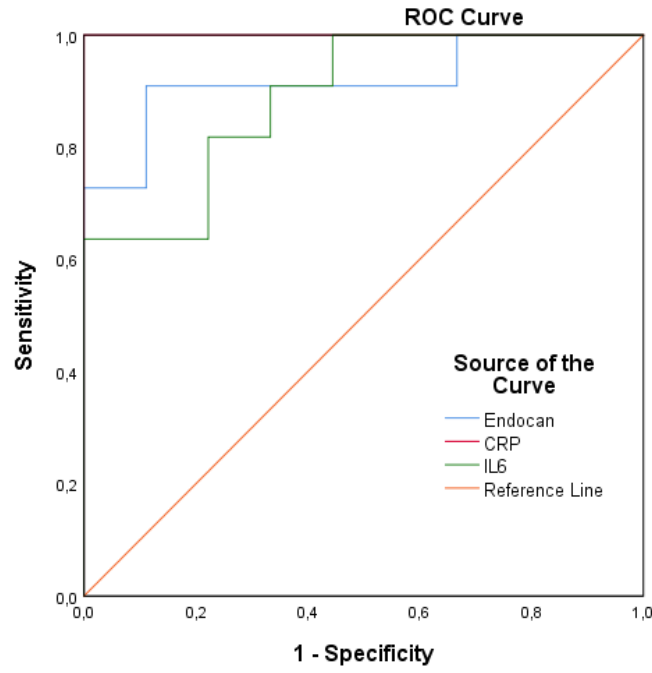
Endocan ile CRP arasında pozitif yönde, orta düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görüldü ($P= 0.002$, $r= 0.595$). Endocan ile IL-6 arasında pozitif yönde, orta düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görüldü ($P< 0.001$, $r= 0.597$). IL-6 ile CRP arasında pozitif yönde, orta düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görüldü ($P= 0.004$, $r= 0.507$) (Tablo 9).

Tablo 10. Endocan, CPR ve IL-6 kesme noktası için duyarlılık, özgüllük, olasılık oranı ve çalışma özellikleri (ROC) eğrisi altındaki alan değerleri

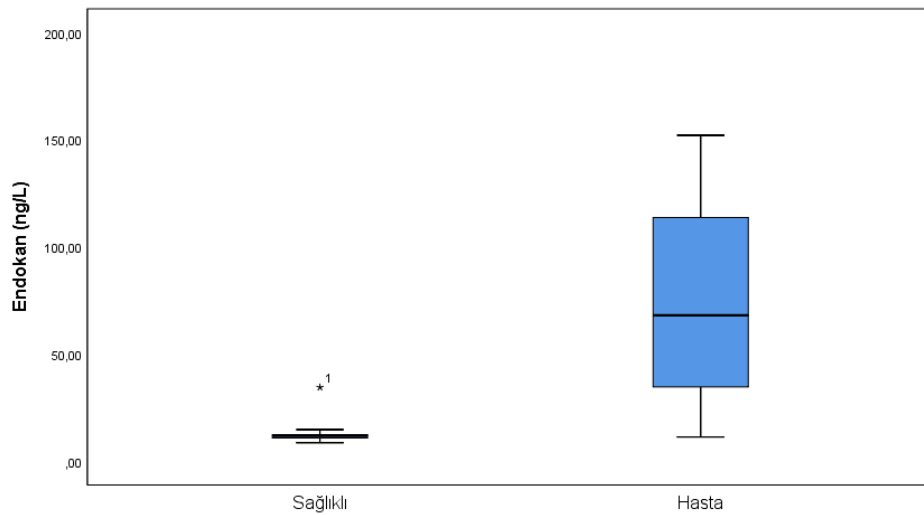
Variables	Criterion	Sensitivity	Specificity	AUC	LR
Endocan (ng/L)	>15.85	0.909	0.111	0.919	8.18
CRP (mg/L)	>2.94	1.000	0.111	1.000	9.00
IL-6 (pg/ml)	>1.90	0.636	0.111	0.889	5.73

AUC: Area under the ROC curve, CI: Confidence Interval, LR: Likelihood Ratio, +LR: Positive Likelihood Ratio, -LR: Negative Likelihood Ratio.

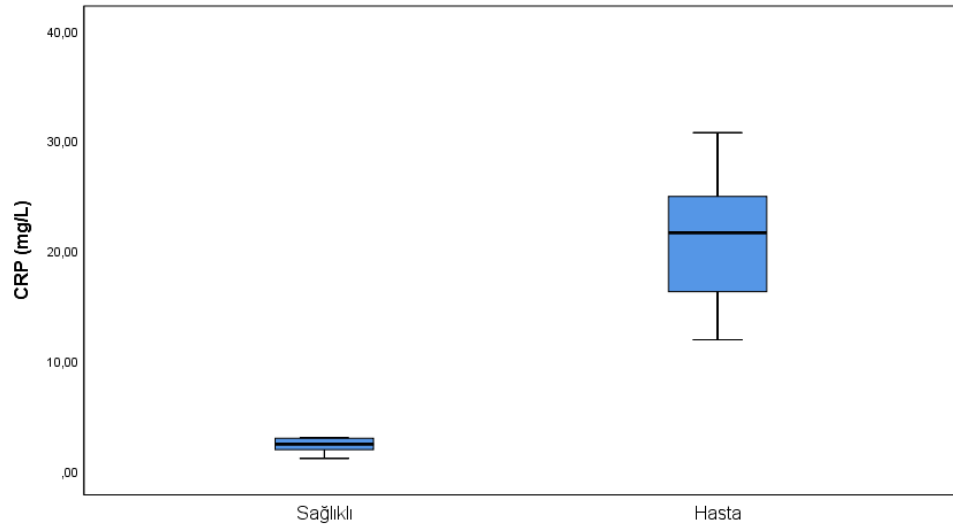
Bu çalışmada Endocan için kesme noktası 15.85 alındığında duyarlılık, özgüllük, ROC AUC ve LR değerleri hesaplandı (sırasıyla; %91, %11, 0.919, 8.18). CRP ve IL-6 değişkenlerine ait duyarlılık, özgüllük, LR ve AUC değerleri Tablo 10'da ifade edildi.



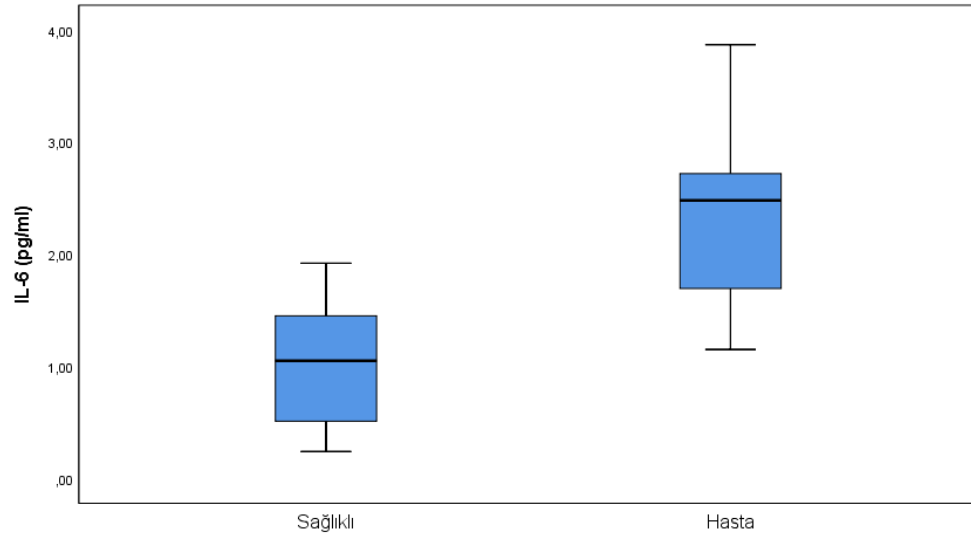
Şekil 4. ROC Analizi Sonuçları



Şekil 5. Gruplar arası endocan konsantrasyonlarının karşılaştırılması



Şekil 6. Gruplar arası CRP konsantrasyonlarının karşılaştırılması



Şekil 7. Gruplar arası IL-6 konsantrasyonlarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Köpeklerde sepsis, yüksek prevalans ve mortalite oranları ile ilişkili ciddi bir durumdur. Parvovirüs enteritisi, bağırsakta bakteriyel translokasyonu ve şiddetli immünosupresyonu teşvik ettiği için sepsis için predispoze bir faktördür. Bu durum, parvovirüs ile enfekte olmuş köpekleri sepsis açısından uygun bir çalışma popülasyonu yapar. Akciğer ve böbrek kanserli hastaların yanı sıra şiddetli sepsisli hastalarda da yüksek kan Endocan seviyeleri bildirilmiştir (Bechard ve ark., 2001b; Scherpereel ve ark., 2003; Grigoriu ve ark., 2006; Scherpereel ve ark., 2006; Sarrazin ve ark., 2010b; Leroy ve diğerleri 2010). Bu nedenle söz konusu araştırmada sepsis gelişimi muhtemel olan parvoviral enteritisli köpeklerde Endocan seviyeleri sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmış ve önemli oranda Endocan düzeylerinin artmış olduğu belirlenmiştir. Bu ön araştırmada yalnız sepsis olan parvoviral enteritisli köpekler çalışmaya dahil edilmemiş, parvoviral enteritis tanısı konulan ve farklı klinik aşamalarındaki köpeklerden toplanan örneklerde belirtilen analizler yapılmıştır. Farklı klinik aşamaların AFP ve sitokinlerin salınımı açısından farklı sonuçlara sahip olması beklenir. Dolayısıyla bu ön araştırmadan elde edilen Endocan düzeylerinin köpeklerdeki parvoviral enteritislere bağlı sepsisi tanımlayan bir biyobelirteç olduğunu söylemek güçtür. Zira en son bilimsel konsensüse göre; enfeksiyona karşı zararlı bir inflamatuvar konak yanıtının tetiklediği organ disfonksiyonunu tanımlamak için sepsis terimi tercih edilmektedir (Singer ve ark., 2016). Bir enfeksiyonun sonucu olarak bakterilerin kan dolaşımına salınmasından sonra, sepsis ancak konakçının bağışıklık sistemi aşırı güçlüyse ve buna göre verdiği yanıt sonucunda gerçekleşir (Skyes ve ark., 2014). Sistemik inflamatuvar yanıt ile sepsis arasındaki korelasyonu kurmak amacıyla 1991 yılında düzenlenen konferansta, bir sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun (SIRS) yer alıp almadığını değerlendirmek için kriterler tanımlanmıştır (Bone ve ark., 1992). Eşik değerleri araştırmalar arasında biraz farklılık göstermekle birlikte, bu kriterlerin hayvanlara ilk adaptasyonundan bu yana

(Purvis ve Kirby, 1994) bir dizi değişikliğe tabi tutulmuşlardır. Bu parametrelerin duyarlılığını (Se) ve özgüllüğünü (Sp) artırmak ve kesin bir tanı koymak için yeterince doğru olmayacaktır. Bu nedenle hayvanları sepsis açısından tararken klinik tablo ile birlikte söz konusu kriterlerin kullanılması tavsiye edilmiştir (Hauptman ve ark., 1997). Bir köpeğe SIRS teşhisi konması için; vücut sıcaklığı $<37.8^{\circ}\text{C}$ veya $>39.4^{\circ}\text{C}$, KR >140 bpm, SS >30 nefes/dk veya $\text{PCO}_2 <32$ mmHg (venöz veya arteriyel), IV-WBC <6000 veya >16.000 hücre/ μL veya $>3\%$ bant nötrofil olarak gösterilen dört kriterden en az ikisinin karşılanması gerektiği bildirilmiştir (Alves ve ark., 2020).

Septik hastaları mortalite/olumsuz sonuç risklerine ve tedaviye yanıt verme potansiyellerine göre sınıflandırmak için 2001'de PIRO olarak kısaltılan yeni bir sınıflandırma sistemi ortaya konuldu. Bu sistem, hastaları predispoze edici koşulları, hastalığın doğasını, enfeksiyonun özelliklerini, buna karşı konakçının immün yanıtını ve ilişkili organ disfonksiyonunu kapsamaktadır (Levy ve ark., 2001). Burada temel amaç; bireylerin klinik çalışmalara ve septik hastaların prognozuna yardımcı olmak, yapılan tedavinin değerlendirilmesine ve sağ kalım oranlarının arttırılmasına yardımcı olmaktır.

Alves ve ark., (2020) tarafından sepsis çalışması için doğal bir model olarak parvovirüs enfeksiyonunun kullanıldığı, PIRO sınıflandırma sistemine göre septik köpekleri sınıflandırmanın yanı sıra, mevcut yaşamsal belirtilerin prognostik değerini belirlemek, ve önceki model ile 2001 modelini karşılaştırarak hızlı bir değerlendirme modeli oluşturmak amacıyla bir çalışma ortaya konulmuştur. Bu çalışmada parvovirus doğal olarak enfekte köpeklere SIRS kriterlerini orijinal olarak önerildiği gibi kabul eden SIRS 1991 olarak adlandırılan ilk set ve SIRS 1991 ile aynı kriterlerle birlikte kapiller dolum süresi veya mukoz membran renk değişikliğini de kriter olarak kapsayan SIRS 2001 olarak adlandırılan ikinci set halinde kriterlere tabi tutuldu. Daha sonra hastalar, insanlardan köpeklere uyarlanmış bir PIRO sınıflandırma sistemi ile sınıflandırıldı. Sonuçta; PIRO'nun öğeleri ile sonuç arasında anlamlı bir istatistiksel ilişki bulunmadı. Bununla birlikte, sepsis şüphesi olan hasta köpekler için bir sınıflandırma sistemi tanımlamanın ve uygulamanın mümkün olabileceği göstermiştir. Ayrıca gelecekteki çalışmalar, PIRO bileşenlerinin her birini ve dolayısıyla genel performansını karakterize etmeye yardımcı olabilecek daha fazla inflamasyon ve organ disfonksiyonu biyobelirteçlerini içermesi tavsiye edilmektedir.

Görüleceği üzere sepsis ve SIRS tanımlamasının köpeklerde tam olarak ortaya konulması için ileri çalışmalara halâ ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü hayvanlar için kesin kriterler tam olarak tanımlanamamıştır. En ideal metodoloji ile, prognozu değerlendirmeye, klinik kararın bir parçası olmaya ve ayrıca gelecekteki sepsis çalışmalarına çalışma popülasyonlarının kaydedilmesine yardımcı olabilecek veriler elde edebilme çabaları devam etmektedir. Bu nedenle sepsisi ön görece biyobelirteç çalışmaları halen özgünlüğünü korumakta ve araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

Yukarıdaki açıklamalar ışığında; köpeklerde sepsis ve SIRS için klinik muayene ve laboratuvar analizleri açısından farklı araştırmalarda farklı sonuçlar elde edilmekle birlikte; bu projede çalışma grubunu oluşturan köpeklerde durgunluk, depresyon, hipertermi ve letarji ile birlikte ortalama WBC değerinin $7.26 \pm 6.92 \times 10^9/L$; solunum sayısının 26.95 ± 3.85 adet/dk olarak belirlenmesi ile yukarıda verilen kriterlere uygun bir SIRS tablosu çalışma grubu köpeklerinin bazılarında şekillenebildiğini düşündürmüştür. Çünkü dört adet hastada belirlenen total lökosit sayılarının ($28.2 \times 10^9/L$, $20.8 \times 10^9/L$, $16.4 \times 10^9/L$, $18.5 \times 10^9/L$) ortalamasının oldukça üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu durum grup içi dağılımının geniş olduğunu ve lökositozisli köpeklerin de CPV teşhisi konulmasından kaynaklanmaktadır.

Ayrıca sepsis şüphesinde vücut sıcaklığı, kalp hızı (HR) ve solunum hızı (RR) gibi hayati parametreler ölçülmeli ve SIRS kriterleri ile karşılaştırılmalıdır. Çünkü sepsis tanısı SIRS kriterleri varlığında ve bir enfeksiyon olduğunda ortaya çıktığı onaylanmıştır. Klinik belirtiler, yalnızca enfeksiyöz ajandan birincil olarak etkilenen organ sistemiyle değil, aynı zamanda ikincil organ işlev bozukluklarıyla da ilişkili oldukları için spesifik olmayabilir. Bazı köpekler hastaneye kabul edildikten sonra zaten septik şokta olabilir. Şok hastalarının ilk aşamasında soluk mukoz membranlar, uzamış kapiller dolum süresi (CRT) ve zayıf nabızlar görülür. Daha sonra, şokun hiperdinamik fazında, hiperemik mukoz membranlar, azalmış kapiller dolma zamanını bir saniyenin altında ve güçlü veya sınırlayıcı nabızlarla sonuçlanan vazodilatasyon devam eder. (Hauptman ve ark., 1997; Cooper ve ark., 2018). Bu tez projesinde elde edilen ve yukarıda belirtilen klinik muayene bulguları ve WBC düzeyleri değerlendirildiğinde Hauptman ve ark., (1997) ile Cooper ve ark.'nın (2018) belirttiği SIRS kriterleri ile tam olarak uyumlu olmadığı belirlenmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen klinik bulgulara göre parvoviral enteritis ön tanısı konularak hasta başı hızlı tanı kitleri ile hastalık tanısı doğrulanmıştır.

Virüs ilk olarak orofaringeal ve mezenterik lenf düğümlerinde ve timusta çoğalır, daha sonra 1 ila 5 gün içinde viremik hale gelir (Goddard ve Leisewitz, 2010). Böylece, akciğer, dalak, karaciğer ve böbreklere ek olarak bağırsak epitelyal kriptlerinin, kemik iliğinin, dil epitelinin, ağız boşluğunun ve kardiyak miyositlerin hızla bölünen hücrelerine yerleşmesi ve buralarda çoğalmasıyla birlikte klinik belirtiler de ortaya çıkmaktadır. Genellikle myokardit nedeniyle ölümler kliniğe getirilmeden şekillenmektedir. 4 ila 14 gün arasında değişebilen bir kuluçka döneminden sonra, genellikle klinik kusma ve hemorajik ishal belirtilerinin başlamasından birkaç gün önce myokardit görülebilir (Decaro ve ark., 2005; Smith-Carr ve ark., 1997; McCaw, 2006).

Bu çalışmada kliniğe getirildikten sonra tedaviye rağmen bazı ölümler (11 adet köpekte) gerçekleşmiştir. Çoğunlukla ölümler direk virüsün myokarda yerleşmesi veya enfeksiyon sonucu gelişen sepsise bağlı myokarditis ile ilişkilendirilmektedir (Güneş ve ark., 2014). Bu çalışmada kardiyak biyobelirteçler çalışma amacının dışında olduğu için çalışılamamıştır. Ayrıca, nekropsi ve histopatolojik analizler de gerçekleştirilmediği için ölümlerin doğrudan myokard hasarına bağlı olduğunu söylemek güçtür. Bağışıklık eksikliği, bağırsak bakterilerinin yer değiştirmesinden kaynaklanan bakteriyemi ile birleştiğinde, etkilenen hayvanları septik şok, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, multiorgan yetmezliği ve tedavi edilmezse ölüm riskiyle karşı karşıya bırakır. Bununla birlikte parvoviral enteritisli köpeklerde düzenli ve etkin tedavinin hayatta kalım oranlarını arttırdığı bilinmektedir (Day MJ ve ark., 2016). Tez çalışmasında ise hasta sahiplerinin bazılarının hastanın tedavisini devam ettirmemelerinin tedaviye rağmen ölüm oranlarını etkilediği düşünülmektedir.

Parvoviral enteritin en yaygın klinik belirtileri uyuşukluk, iştahsızlık, kusma ve yumuşaktan mukoid sıvıya ve kanamalıya kadar değişen ishaldir. Gastrointestinal sıvı kayıpları ile hipovolemik şoka ilerleyen intersitisyel dehidratasyon hızla meydana gelebilir. Enterosit besin emiliminin olmaması, sistemik bakteriyemi ve yeterli karaciğer ve kas glikojen depolarının olmaması da nöroglikopeni ve nöbetlerle birlikte önemli hipoglisemiye neden olabilir. Bu çalışmaya dahil tüm köpeklerde de yukarıda parvoviral enfeksiyonlar için belirtilenler klinik belirtiler gözlenmiştir. Yukarıdaki klinik belirtilere ilave olarak; fizik muayenede mukozal solgunluk, uzamış kapiller dolum zamanı,

hipertermi veya hipotermi ve abdominal palpasyonda duyarlılık gözlenmiştir. Bu çalışmada ölen ve hayatta kalan köpekler arasındaki Endocan düzeyleri belirlenememiştir. Çünkü hastaneye getirilen ve örneklemeleri yapılan ve tedavi edilen köpeklerin çoğunluğu tekrar hastaneye getirilmemiştir. Bu nedenle tüm hastaların akibeti hakkında bilgi alınamıştır. Sonuçta sözkonusu parametrelerin prognostik olup olmadığı hakkında bir karara varılamamıştır. Parvoviral enteritis tanısı konulan ve tedavi başlanan köpekler hospitalize edilmemiştir. Günlük olarak tedaviye gelmeleri istenmiştir. Hayvan sahiplerinin tedaviye olan ilgisizliği, zamanında hastaneye gelmemeleri, kimi hayvan sahiplerinin hastaneye gelip gitmesinin çok masraflı olduğunu beyan etmesi, yazılan reçeteleri almamaları veya eksik almaları, reçetelerdeki ilaçları uygulamada gösterilen özensizlik, kimi hayvan sahiplerinin ekonomik olarak tedaviyi karşılayamamaları gibi sebepler tedavideki başarı oranlarını etkilemiştir. Bu nedenle mevcut ölümlerin (11 adet) sadece hastalığın şiddetine bağlanamayacağı düşünülmüştür. Sonuçta bu çalışmada, Endocan düzeylerinin hastalığın prognozunun ölen ve sağ kalan köpekler arasında değerlendirilmesi yapılmamıştır.

Virüs enteritis ve bağırsak villusunun körelmesine neden olur, bu da besin emilim bozukluğu ve enterik bakteriyel translokasyonun yanı sıra klinik kusma ve hemorajik ishal belirtilerine neden olur. Timustaki viral enfeksiyon, timik korteksin yıkımına ve çökmesine neden olur. Kemik iliğinde lökosit öncülerinin yok edilmesiyle birlikte bu bulgu, enfekte hayvanlarda önemli lökopeni ile sonuçlanır. (Pollack, 1982; Decaro ve ark., 2012) Bu çalışma bulgularında da lökopeni başlıca bir hematoloji bulgusuydu (Tablo-6). Septik bir hayvana tanısız yaklaşım, tam kan sayımı, biyokimya profili ve pıhtılaşma testlerini içermelidir. Bu çalışmada pıhtılaşma testleri yapılmamış olmakla birlikte Hemogram, farklı hücresel soylardaki anormallikleri ortaya koymuştur (Tablo-6).

Virüs, kemik iliği, timus ve diğer lenfoid dokuların aktif olarak çoğalan hücrelerine saldırdığı için, toplam beyaz kan hücresi sayımı ve lökonötropeni varlığının daha önce CPV'li hastalarda ayırt edici bir özellik olduğu düşünülmüştür. Lenfopeni, CPV ile enfekte olmuş köpeklerin yanı sıra köpek koronavirüsünden etkilenen köpek yavrularında da ortaya çıkabilir (Castro ve ark., 2013). Bu nedenle, etkilenen hastalarda CPV tanısını daha da desteklemek için diğer testlerle birlikte lenfopeninin dikkate alınması tavsiye edilmektedir. Bu tez çalışmasında da çalışma grubunda 2.68 ± 4.05

$\times 10^9/L$ ortalama lenfosit düzeyi belirlenirken, sağlıklı grupta ortalama değerin $2.92 \pm 2.81 \times 10^9/L$ olduğu saptanmıştır. Gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat çalışma grubunda elde edilen lenfosit düzeylerinin standart sapmasının oldukça yüksek olduğu, bu durumun grup içerisinde geniş bir varyasyon nedeniyle grup ortalamasını etkilediği görülmüştür. Bu varyasyonların da hastalığın farklı dönemlerinde bulunan köpeklerin çalışmaya dahil edilmesine bağlanabilir. Bununla birlikte anemi ve lökopeni bulguları ile klinik bulgular ve hayvanların yaş aralığı dikkate alındığında parvoviral enteritis ön tanısı konulmuştur. Bu köpeklere parvovirus antijen hızlı tanı testi de (+) belirlenmiştir. Hastalığın seyri sırasında sitopeninin varlığı, CPV'deki prognozu tahmin etmede faydalı olabilir. Yapılan bir çalışmada, CPV'li hayatta kalanlar ve ölenler arasında nötropeni açısından anlamlı bir fark olmadığı belgelenmiştir. Aynı çalışma, başvuru sırasında ve 48 saatlik hastaneye yatış sırasında toplam lökosit sayısının $4500/\mu L$ 'den yüksek ve lenfosit sayısının $1000/\mu L$ 'den yüksek tutulmasının sağkalımı güçlü bir şekilde öngördüğünü belirtmişlerdir. (Goddard ve ark., 2008).

Ortalama WBC, RBC, Lym, Mon, Gran, Hgb ve PCV değerlerinin parvoviral enteritisli köpeklerde kontrol grubuna göre ve köpekler için belirtilen referans aralıklarının altında olduğu belirlendi (Moritz ve ark., 2004; Tvedten, 1981). Azalmış Hematokrit değerinin çoğunlukla; kan kaybı, hemoliz, oksidatif hasar ve azalmış eritrosit üretimine bağlı olarak gelişen anemi tablosunun göstergesidir (Kalli ve ark., 2010; Macintire ve ark., 1997; Li ve Humm, 2015). Polisitemi, hemokonsantrasyon ve dalak kontraksiyonu nedeniyle hipovolemik hayvanlarda da mevcut olabilir (Macintire ve ark., 1997; Kalli ve ark., 2010; Li ve Humm, 2015). Dehidrasyona bağlı relatif bir polisitemi olması beklenirken, hemorajik gastroenteritislerde hem dehidrasyon hem de anemi birlikte gözlenmektedir. Bu çalışmada parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde kanlı bir ishal ve dehidrasyon tablosu birlikte gözlemlendiği için anemi belirteci olan RBC ve hematokrit değerlerindeki azalma klinik görünümle uyumlu bulunmuştur. Aynı zamanda hemorajik gastroenteritislerde dehidrasyonla birlikte hipoproteinemi de gelişen bir diğer bulgudur (Macintire ve ark., 1997; Kalli ve ark., 2010). Çalışmamızda hipoproteinemi bulguları da söz konusu hemorajik gastroenteritis tablosunu desteklemektedir.

Parvoviral enteritisli çoğu hayvanda lökositosis ve bant nötrofillerinde artış bulunur ve kan yayması nötrofillerde toksik değişiklikleri ortaya çıkar (Showkat ve ark., 2013).

Ancak bu araştırmada çalışma grubunun ortalama verileri incelendiğinde lökopeni ve lenfopeni tablosu gözlenmiştir. Parvovirusun lenfatik sistem, kemik iliği gibi bölgelere daha çok yerleşmesi nedeniyle immünosupresyon ve lenfosit apoptozisi nedeniyle lenfopeni ve lökopeninin devam etmesi çoğunlukla ortaya çıkan en önemli hematoloji bulgularıdır (Macintire ve ark., 1997; Kalli ve ark., 2010;). Özellikle lökopeni tablosu bu hastalarda prognozun takip edilmesinde faydalı bir kan bulgusudur.

Parvovirus kemik iliği, timus ve diğer lenfoid dokuların aktif olarak çoğalan hücrelerine saldırdığı için, WBC sayımı ve lökonötropeni varlığının daha önce CPV'li hastalarda ayırt edici bir özellik olduğu düşünülmüştür. Lenfopeni, CPV ile enfekte olmuş köpeklerin yanı sıra köpek koronavirüsünden etkilenen köpek yavrularında da gözlenebilir (Castro ve ark., 2013). Bu nedenle, etkilenen hastalarda CPV tanısını daha da desteklemek için diğer testlerle birlikte lenfopeni bulgusu da kullanılır. Hastalığın seyri sırasında sitopeninin varlığı, CPV'deki sonucu tahmin etmede faydalı olabilirse de, yapılan bir çalışmada, hayatta kalanlar ve ölenler arasında nötropeni açısından anlamlı bir fark olmadığını gözlenmiştir (Goddard ve ark., 2008). Aynı çalışma, başvuru sırasında ve 48 saatlik hastanede yatış sırasında toplam lökosit sayısının $4500/\mu\text{L}$ 'den yüksek ve lenfosit sayısının $1000/\mu\text{L}$ 'den yüksek tutulmasının sağkalımı güçlü bir şekilde öngördüğünü de bulmuştur.

Biyokimyasal anormallikler değişkenlik gösterir veya birincil olarak enfeksiyondan etkilenen ya da inflamatuvar duruma ikincil olarak meydana gelen organ işlev bozukluklarını yansıtır. Yaygın bulgular arasında glisemik değişiklikler (hipoglisemi veya hiperglisemi), hipokalsemi ve hiperbilirubinemi yer alır (Sykes ve ark., 2014; Girardot ve ark., 2016; Cooper ve ark., 2018).

Bu araştırmada kalsiyum ve bilirubin düzeyleri analiz edilmemiş, fakat total protein, albümin ve glukoz düzeyleri saptanmıştır. Parvoviral enteritis tanısı konulan köpeklerde daha çok hiperglisemi gözlenmiştir. Ayrıca hipoproteinemi bu tez çalışmasının hasta grubundaki köpeklerde gözlenen temel biyokimyasal bulgular olarak belirlendi (Tablo 7). Söz konusu bulguların değişimlerinin parvoviral enteritis geçiren köpeklerde bildirilen değerlerle uyumlu olduğu bulunmuştur.

Yapılan bir araştırmada, parvoviral enteritisli köpeklerde C-reaktif protein (CRP), albumin, neopterin (Np), ürokinaz tipi plazminojen aktivatör reseptörü (uPAR) ve

lökosit seviyelerindeki değişiklikleri belirlenmiştir (Başbuğ ve ark., 2020). Toplam 40 köpeğin 11'i ölmüştür. Ölüm oranları araştırmamızdaki oranlarla oldukça benzerdir.

Akut faz proteinleri (AFP), sistemik bir inflamatuvar sürece tepki olarak kandaki konsantrasyonları artan hassas biyobelirteçlerdir (Eckersall ve Bell, 2010) Özellikle enfeksiyon hastalıklarında (Mylonakis ve ark., 2011; Viitanen ve ark., 2014), immün aracılı hastalıklarda (Bathen-Noethen ve ark., 2008; Mitchell ve ark., 2009), neoplazilerde (Nielsen ve ark., 2007; Shida, 2011; Planellas ve ark., 2009). AFP'ler, klasik inflamasyon belirteçlerinden daha hızlı ve daha kısa bir yarı ömür ile tepki verilir.

Köpeklerde CRP düzeyleri çeşitli yangısal durumlarda en çok araştırılan AFP'dir. Zira köpeklerde en duyarlı yangısal bir biyobelirteçdir. CRP seviyeleri, akut inflamasyon veya travmaya yanıt olarak konsantrasyonları önemli ölçüde (50 kat veya daha fazla) ve hızla artar. Konsantrasyonlar ayrıca inflamasyonun çözülmesiyle hızla azalır. CRP ölçümü, altta yatan enflamasyonun varlığını doğrulamak (özellikle diğer klinik veya laboratuvar enflamasyon göstergelerinin yokluğunda) ve tedaviye yanıtı izlemek için yararlıdır. Sepsis, immün aracılı hemolitik anemi (IMHA) ve kanser gibi çeşitli hastalıklarda kan CRP seviyelerinde artışlar bildirilmiştir. Sağlıklı köpeklerin CRP konsantrasyonları genellikle <10 mg/L'dir, ancak klinik olarak sağlıklı bazı köpekler biraz daha yüksek değerlere (25 mg/L'ye kadar) sahip olabilir.

Başbuğ ve ark.'nın (2020) yaptığı bir araştırmada, ölen ve yaşayan parvoviral enteritisli köpeklerin CRP düzeyi kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($p<0.05$) yüksek olarak tespit edilmiştir. CRP 120.50 mg/L olarak belirlenmiştir. Parvoviral enteritisli köpeklerde azalmış lökosit ve albumin seviyeleri ile artmış CRP seviyelerinin kötü prognozun bir göstergesi olabileceği ifade edilmiştir.

Doku hasarı ve enfeksiyonlarda yüksek CRP seviyesinin zayıf prognozu gösterdiği belirtilse de (Kocatürk ve ark., 2015), akut dönemde ortaya çıkması nedeniyle daha çok diagnostik açıdan önemlidir. İnflamasyonun değerlendirilmesi sonucunda ve salgılanan sitokinlerin uyarılmasıyla karaciğerde sentezlenir ve kanda CRP seviyeleri artış gösterir. Köpeklerde inflamatuvar bir uyarıdan sonraki ilk 8-24 saat içinde artar (Christensen ve ark., 2014; Hindenberg ve ark., 2018) ve 48 saat sonra pik noktaya ulaşan değerler 1-2 hafta içinde normal seviyelere döner (Ceron ve al. 2005). Yarılanma zamanının günlerle sınırlı olması nedeniyle seviyelerindeki artışlar daha çok enfeksiyonun ilk

dönemlerindeki yangısal tablonun bir göstergesidir. Sağlıklı köpeklerin çok düşük bir serum seviyesi vardır (Nandi ve Kumar 2010; Schmidt ve Eckersall 2015). Bu tez çalışmasında çalışma grubundaki köpeklerde serum ortalama CRP düzeylerinin 20.87 ± 6.34 mg/L olduğu belirlenmiştir. Bazı araştırmalarda CRP aralığının ~ 10 - 20 mg/l'nin altındadır (Klenner ve ark., 2010; Hillström ve ark., 2014; Hindenberg ve ark., 2018). Son derece nadir vakalarda >900 mg/L'ye varan köpek CRP değeri artışları bildirilmiştir (Christensen ve ark., 2014; Yamamoto ve ark., 1993).

Bu tez çalışmasında kontrol grubundaki köpeklerdeki ortalama CRP düzeylerinin 2.24 ± 0.66 mg/L olduğu saptanmıştır. Parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde sağlıklı deneklere göre; serum CRP seviyeleri 10 kat daha yüksek olabileceği bildirilmiştir (McClure ve ark. 2013). Kocatürk ve ark., (2010) ölüm oranının %91 oranında görüldüğü parvoviral enteritli köpeklerde 92.4 mg/L'nin üzerindeki CRP seviyelerini rapor etmişlerdir. Bu tez çalışmasında ölen ve sağlıklılar arasında serum CRP ve diğer parametreler arasında farklılıklar değerlendirilememiştir. Bununla birlikte önceki çalışmalarla uyumlu olarak hasta grubunda sağlıklılara göre CRP konsantrasyonlarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (Gruys ve ark., 2005; Kocatürk ve ark., 2010, Kocatürk ve ark., 2015; Başbuğ ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında; ilk aşamada oluşan ve önemli yangısal sitokinlerden olan IL-6 düzeylerinin de sağlıklılara oranla önemli oranda yüksek olduğu belirlenmiştir. Savunma sisteminin cevabı olarak yangısal hücrelerden salgılanan bu tür sitokinler karaciğerden akut faz proteinlerinin üretimine neden olurlar. İnsan çalışmalarında daha çok araştırılan bir belirteç olan IL-6 (Declue ve ark., 2012; Miao ve ark., 2013). IL-1 ve TNF- α 'ya ek olarak, erken akut faz reaksiyonunda yer alan 3 ana sitokinden biridir. Esas olarak monositler ve makrofajlar tarafından üretilirken, kronik inflamatuvar hastalıkta IL-6'nın ana kaynağı T lenfositlerdir (Naugler ve Karin, 2008). IL-6 salınımı lipopolisakkaritler, viral enfeksiyonlar veya nekrotik hücreler tarafından salınan ürünler tarafından indüklenir (Trautwein ve ark., 1993; Naugler ve ark., 2007).

IL-6 kendi başına serum amiloid A ve CRP gibi AFP'nin üretimini indükler (Castell ve ark., 1988). Bu tez çalışmasında da IL-6 düzeyleri sağlıklılara oranla hastalarda önemli oranda yüksek bulunmuştur. Ayrıca CRP ve IL-6 arasındaki orta derecede pozitif korelasyon yukarıdaki araştırmalarda belirtildiği gibi; IL-6'nın CRP üretimi ile paralel olduğu ve bu sitokinin CRP üretimini indüklediğini destekler niteliktedir.

IL-6'nın yüksek serum konsantrasyonlarına ilişkin delillerin, endojen sitokinlerin sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun (SIRS) patogeneğinde önemli bir rol oynadığını ve sitokin üretiminin aşırı uyarılmasının kötü sonuçlara katkıda bulunduğunu göstermektedir (Rau ve ark., 2007)

IL-6, dolaşımdaki CRP'de bir artış ve klinik belirtiler algılanmadan önce gelişmiş olan inflamatuvar süreci tahmin edilmesini sağlar (Steinmetz ve ark., 1995; Le Moine ve ark., 1994)

Bu tez çalışmasında köpeklerin hastalanması ile kliniğe getirilmeleri arasında geçen birkaç günlük farklı süreler nedeniyle IL-6 seviyelerinde grup ortalamalarının dışında çok daha az düşük seviyelerde sonuçlar elde edildi. Bu düşük düzeyler erken dönemde artan ve sonra azalan IL-6 seviyeleri olduğu yönünde yorumlanmıştır. Bu nedenle tez projesinde IL-6'nın erken bir belirteç olup olmadığını destekleyecek veriler bu çalışmada belirlenmemiştir. Veteriner hekimliğinde, inflamatuvar hastalık, sepsis veya SIRS'li hasta hayvanlarda IL-6 konsantrasyonlarını, teşhis ve prognostik faydasını belirlemek amacıyla yapılmış çeşitli çalışmalar vardır (Declue ve ark., 2012; Rau ve ark., 2007).

Septisemili veya SIRS'li köpekler de dahil olmak üzere hastaneye ilk başvuruda IL-6 saptanmıştır. Kan IL-6 konsantrasyonu ile hastalığın şiddeti ve ölüm oranı arasında pozitif bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir (Rau ve ark., 2007). Şimdiye kadar IL-6 üzerine yapılan çalışmaların çoğu, halihazırda mevcut enfeksiyon, SIRS veya sepsisi olan hasta hayvanlarda inflamatuvar belirteçlerin prognostik değerini karşılaştırmıştır. Ancak enfeksiyonun başından itibaren sitokin düzeylerinin takip edildiği süreci öngören ve analitlerin hangi dönemde yükseldiğini veya azaldığını belirleyen analizlerin yapıldığı bir çalışma belirlenmemiştir. Mevcut araştırmada da tek defa da alınan örnekler sağlıklılarla karşılaştırılmış olması bu araştırmayı sınırlayan faktörlerden birisidir. Zaten böyle bir çalışma ancak deneysel çalışma ile yapılabilir.

Köpek parvovirüs enfeksiyonlarında sepsis gelişimine birçok faktör katkıda bulunur. Hücresel yıkım, bağırsak hipomotilitesi, disbiyoz, bağırsak iltihabı ve doku nekrozu, gastrointestinal mukozal bariyeri bozar. Sonuçta Gram-negatif ve anaerobik bakterilerin bağırsak lümeninden kan dolaşımına translokasyonuna izin vererek bakteriyemiye neden olur (Kalli, 2016; Krentz ve ark., 2017).

Mukozal bariyerin bozulması ile birlikte sekonder enfeksiyonlara yatkınlığı artıran bozulmuş bağışıklık gelişir. Virüs ayrıca kemik iliği ve lenfoid dokudaki lökositlerin ve lenfoid hücrelerinin mitotik olarak aktif öncülerini hedef aldığından, CPV ile enfekte köpeklerde belirgin lökopeni (çoğunlukla nötropeni ve lenfopeni) sıklıkla gözlenir. Nötropeni ve bakteri aşırı yükü, sağlıklı hayvanların aksine lümen bakterilerinin kan dolaşımından yok edilmesini engeller (Kalli, 2016; Yılmaz ve Şentürk, 2007; Goddard ve Leisewitz, 2010). SIRS progresyonu ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı ile gastrointestinal bariyer yeniden tehlikeye girer ve bakteriyel translokasyon döngüsüne katkıda bulunur (Krentz ve ark., 2017).

Parvoviral hastalığın enterik formunda kript epitel hücrelerinin nekrozu oluşmaktadır. Villus ve lamina propria, kript epitelinin kaybı ve dökülen villöz epitel hücrelerinin yerine konamaması sonucu önemli oranda hasara uğrar. Sindirimin bozulması ve malabsorbsiyonun sonucunda oluşan diyare, dehidrasyon, elektrolit dengesizliği, endotoksik şok veya sekonder septisemiye yol açabilir (Nandi ve Kumar, 2010). İnsanlarda sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve sepsis veya septik şok gibi yangısal durumlarda endotelial glikokaliks (eGCX) yapının bozulacağı bildirilmiştir (Henry ve Duling, 2000; Nelson ve ark., 2008). Endotelyal hücreye özgü molekül-1 (ESM-1) veya Endocan kritik hastalarda eGCX tabakanın hasarına bağlı dolaşıma salınabileceği ve kan serumunda düzeylerinin artması nedeniyle sepsis gibi kritik durumlar için umut vadeci bir biyobelirteç olduğu belirtilmiştir (Ioakeimidou ve ark., 2017; Uchimido ve ark., 2019).

Dolayısıyla yangısal yanıt ve sepsis sonucunda endotel hasarına bağlı yukarıda belirtilen Endocan gibi metabolitlerin dolaşıma sızması ve kanda düzeylerinin yükselmesi beklenmektedir. Bu açıdan çalışmamızda elde edilen ve kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösteren Endocan düzeyleri bu hayvanlarda endotel düzeyinde bir yıkımlanmanın olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Köpeklerde endotelial hasarın belirlenmesi için standart bir yöntem olmamakla birlikte parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde Endocan düzeylerinin araştırıldığı son bir çalışmada; sağlıklı köpeklere oranla parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde daha yüksek ESM-1 (Endocan) seviyelerinin eGCX hasarını gösterebileceğini de belirlemiştir (Naseri ve ark., 2020). Ayrıca, parvoviral enfeksiyon nedeniyle hayatta kalmayan köpeklerde serum ESM-1'in yüksek seviyeleri, serum ESM-1'in CPV'li köpeklerde

mortaliteyi tahmin etmede faydalı bir biyobelirteç olabileceği de aynı yazarlar tarafından ortaya konulmuştur.

ESM-1 veya Endocan, endotel hücreleri tarafından salgılanan bir proteoglikandır ve ana sentez kaynağı akciğer endotel hücreleridir (Bécharde ve ark., 2001a). İnsan endotoksemisi ile ilgili deneysel çalışmalar, inflamatuvar fazın başlangıcında lipopolisakkarit (LPS) infüzyonundan sonra Endocan seviyelerinin arttığını ve 8. saatte taban çizgisine döndüğünü göstermiştir. Septik hastalarda yapılan prospektif bir çalışma, septik grupta dolaşımdaki Endocan düzeylerinin sağlıklı donörlerden ve SIRS'li hastalardan anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Septik şoklu hastalarda Endocan konsantrasyonunun, sepsis ve şiddetli sepsisli hastalardan belirgin şekilde daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Scherpereel ve ark., 2006).

Bu tez projesinde Sepsis ve SIRS'a ait kriterlerin köpeklerde tam bir standardizasyonu olmadığı için bu çalışmada kontrole göre yüksek Endocan düzeylerinin sepsis veya SIRS'a bağlı olduğunu söylemek güç olsa da istatistiksel açıdan anlamlı oranda yüksek değerler nedeniyle parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde damar endotelinde glikokaliks yapının bozulabildiği ve damar endotel hasarının oluşabildiği tahmin edilmektedir. Ayrıca bu tez çalışmasının hasta grubundaki CRP, IL-6 bulguları ile birlikte Endocan bulguları değerlendirildiğinde yangı öncesi sitokin (IL-6) ve ilgili akut faz proteini (CRP) bulgularının ortalama Endocan bulguları ile sağlıklılara göre artış tarzında paralel seyretmesi (Tablo 8) Endocan'ın köpeklerin enfeksiyöz hastalıkları için de önemli bir biyobelirteç adayı olduğunu göstermektedir. Yapılan pearson korelasyon analizlerinde de bu üç parametre arasında orta düzeyde pozitif korelasyonların belirlenmesi (Tablo 9) nedeniyle korelasyon sonuçları da yukarıdaki yargımızı kuvvetli biçimde desteklemektedir.

Bu çalışmada aynı zamanda Parvoviral enteritislerde Endocan düzeylerinin eşik değerleri, spesifite ve sensitivite de ortaya konulmuştur (Tablo 10). Elde edilen sonuçlar bu alanda yapılan son çalışma olan çalışmasından elde edilen verilerle farklı olarak belirlenmiştir (Naseri ve ark., 2020). Bu araştırmada da olduğu gibi sağlıklı köpeklere kıyasla CPV'li köpeklerde daha yüksek ESM-1/Endocan seviyelerinin eGCX hasarını gösterebileceği yazarlarca da değerlendirilmiştir. Ayrıca, hayatta kalmayan köpeklerde serum ESM-1'in yüksek seviyeleri, serum ESM-1'in CPV'li köpeklerde mortaliteyi tahmin etmek için prognostik önemi olabileceğini de düşündürmüştür.

Hastaneye kabulden sonraki ilk 24 saat içinde hayatta kalmayan köpeklerde daha yüksek olan Endocan seviyeleri bu köpeklerde klinik bulguların ciddiyetine ve sepsis gelişimine bağlanmıştır. Fakat çalışmamızda daha önce belirtilen gerekçelerle Endocan'ın prognostik değeri belirlenememiştir. Önceki araştırmada, 0.821'lik AUC, %100'lük bir duyarlılık ve %67'lik bir özgüllük Endocan için ortaya konulmuştu. Bu tez projesinde ise; Endocan için bu tez çalışmasında kesme noktası 15.85 alındığında duyarlılık, özgüllük, ROC AUC ve LR değerleri sırasıyla; %91, %11, 0.919, 8.18 olduğu belirlenmiştir. Bu değerlerin yukarıdaki verilerle karşılaştırılması yapıldığında sağlıklı gruba göre hasta köpeklerde Endocan seviyelerinin önemli düzeyde artması belirli oranda endotelial hasarın olduğu bu çalışma ile de desteklenmiştir. Ancak Naseri ve ark.'nın (2020) yaptıkları son çalışmadaki hem sağlıklı hem de çalışma grubundaki köpekler ile kıyaslandığında bu tez çalışmasının bulgularının Endocan aktivitesi yönünden daha düşük düzeyde olduğu görülmüştür. Bu durumun temel nedenleri arasında; öncelikle kullanılan ELISA kitlerinin farklılığı, kitlerin farklı duyarlılık ve standart konsantrasyonlarındaki farklı olması, ikinci düzeyde ise her iki çalışma da kullanılan hayvanların ve enfeksiyon düzeylerinin farklı olması, bu çok hassas analitin çalışmalar arasında farklı düzeylerde seyredebileceğini düşündürmüştür.

Sonuçta;

Bu tez projesinde küçük hayvan hekimliği alanında parvoviral enfeksiyonlarda karşılaşılan sepsis ve SIRS gibi hayati tehlikesi olan önemli durumların patogenezinde rol oynayan ve hastalığın prognozunu ortaya koyan umut vadeden bir biyobelirteç olduğu değerlendirilmiştir.

Parvoviral enfeksiyonda yangısal durumu belirleyen ve küçük hayvan hekimliğinde rutin kullanıma giren CRP düzeylerinin hastalar için önemli bir biyobelirteç olduğuna dair bilgileri destekleyen sonuçlar elde edilmiştir.

Sitokin düzeyleri yangısal süreçlerde izlenmesi gereken ara parametrelerdir. Bu çalışma da CRP düzeyleri için IL-6 seviyelerinin ilişkili olduğu ve aralarında pozitif korelasyon nedeniyle CRP araştırmalarında IL-6 seviyelerinin de araştırılmasının gerekliliği değerlendirilmiştir.

Endocan, IL-6 ve CRP seviyelerindeki pozitif korelasyonlar nedeniyle bu üç parametrenin parvoviral enfeksiyonlarda yangısal sürecin değerlendirilmesinde etkin faktörler olduğu belirlenmiştir.

Yukarıdaki sonuçlara ilave olarak bu çalışmayı sınırlayan bazı faktörler de söz konusudur. Bunlar;

Örnekler ELISA sürecinde çift olarak çalışılmıştır. Bununla birlikte kontrol ve çalışma grubundaki her bir köpekten bir kez kan örneğinin alınması,

Sağ kalan ve ölen köpekler arasında parametreler arasında farklılığın belirlenememesi,

Çalışma grubu köpeklerinde sepsis, SIRS kriterlerinin kesin biçimde belirlenememesi nedeniyle sepsis için yukarıdaki parametrelerin tam olarak geçerliliğinin kanıtlanamaması,

Ölen köpeklerde histopatolojik analizlerin yapılmaması gibi eksiklikler sayılabilir.

Sunulan çalışma ESM1/Endocan üzerine küçük hayvan çalışmaları içinde alanında ikinci çalışmadır. Dolayısıyla bu alanda halen kontrollü, farklı hastalıklarda, sepsis kriterlerinin doğrulandığı, hastalık süresince Endocan takiplerinin yapıldığı, damar endotelindeki hasarın immünohistokimyasal olarak kan bulguları ile doğrulandığı daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Abrams-Ogg A. Neutropenia. In: BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. 2nd ed. Day MJ, Kohn B (Eds.). Gloucester, BSAVA, 2012; p. 117-125.
- Aktaş MS, Özkanlar YE, Kırbaş A. Erzurum ve çevresinden kliniğe getirilen sahipli köpeklerin parvoviral enteritisini etkileyen risk faktörleri üzerinde bir araştırma. Atatürk Univ Vet Bil Derg, 2011; 6(1): 1-8.
- Alves F, Prata S, Nunes T, Gomes J, Aguiar S, Aires da Silva F, Tavares L, Almeida V, Gil S. Canine parvovirus: a predicting canine model for sepsis. BMC Vet Res, 2020; 16(1): 199.
- An DJ, Kim TY, Song DS, Kang BK, Park BK. An immunochromatography assay for rapid antemortem diagnosis of dogs suspected to have canine distemper. J Virol Methods, 2008; 147(2): 244-249.
- Balta I, Balta S, Demirkol S, Mikhailidis DP, Celik T, Akhan M, Kurt O, Kurt YG, Aydın I, Kilic S. Elevated serum levels of endocan in patients with psoriasis vulgaris: correlations with cardiovascular risk and activity of disease. Br J Dermatol, 2013; 169(5): 1066-1070.
- Balta I, Balta S, Koryurek OM, Demirkol S, Mikhailidis DP, Celik T, Cakar M, Kucuk U, Eksioglu M, Kurt YG. Serum endocan levels as a marker of disease activity in patients with Behçet disease. J Am Acad Dermatol, 2014; 70(2): 291-296.
- Balta S, Mikhailidis DP, Demirkol S, Ozturk C, Celik T, Iyisoy A. Endocan: A novel inflammatory indicator in cardiovascular disease? Atherosclerosis, 2015; 243(1): 339-343.
- Basbug O, Yurdakul I, Yuksel M: Evaluation of serum amyloid A and procalcitonin in some inflammatory diseases of cattle. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2020; 26(3): 397-402.

- Bathen-Noethen A, Carlson R, Menzel D, Mischke R, Tipold A. Concentrations of acute-phase proteins in dogs with steroid responsive meningitis-arteritis. *J Vet Intern Med*, 2008; 22(5): 1149-1156.
- Bécharde D, Gentina T, Delehedde M, Scherpereel A, Lyon M, Aumercier M, Vazeux R, Richet C, Degand P, Jude B, Janin A, Fernig DG, Tonnel AB, Lassalle P. Endocan is a novel chondroitin sulfate/dermatan sulfate proteoglycan that promotes hepatocyte growth factor/scatter factor mitogenic activity. *J Biol Chem*, 2001a; 276(51): 48341-48349.
- Bécharde D, Scherpereel A, Hammad H, Gentina T, Tsicopoulos A, Aumercier M, Pestel J, Dessaint JP, Tonnel AB, Lassalle P. Human endothelial-cell specific molecule-1 binds directly to the integrin CD11a/CD18 (LFA-1) and blocks binding to intercellular adhesion molecule-1. *J Immunol*, 2001b; 167(6): 3099-3106.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, 1992; 101(6): 1644-1655.
- Büyüktiryaki M, Okur N, Tayman C, Serkant U, Çakır U, Halil H, Öncel MY, Oğuz SŞ. Endocan geç neonatalsepsisi öngörebiliyor mu? *Ulusal Neonatoloji Kongresi*, 2017; s. 19.
- Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Hirano T, Kishimoto T, Heinrich PC. Recombinant human interleukin-6 (IL-6/BSF-2/HSF) regulates the synthesis of acute phase proteins in human hepatocytes. *FEBS Lett*, 1988; 232(2): 347-350.
- Castro TX, Cubel Garcia Rde C, Gonçalves LP, Costa EM, Marcello GC, Labarthe NV, Mendes-de-Almeida F. Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. *Can Vet J*, 2013; 54(9): 885-888.
- Chang SF, Sgro JY, Parrish CR. Multiple amino acids in the capsid structure of canine parvovirus coordinately determine the canine host range and specific antigenic and hemagglutination properties. *J Virol*, 1992; 66(12): 6858-6867.
- Charoenkul K, Janetanakit T, Chaipayong S, Bunpaong N, Boonyapisitsopa S, Tangwangvivat R, Amonsin A. First detection and genetic characterization of

- canine Kobuvirus in domestic dogs in Thailand. *BMC Vet Res*, 2019; 15(1): 254.
- Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, Andreassen EB, Moldal E, Tvarijonaviciute A, Kirpensteijn J, Jakobsen S, Persson F, Kjelgaard-Hansen M. Comparison of serum amyloid A and C-reactive protein as diagnostic markers of systemic inflammation in dogs. *Can Vet J*, 2014; 55(2): 161-168.
- Cohn LA, Rewerts JM, McCaw D, Boon GD, Wagner-Mann C, Lothrop CD Jr. Plasma granulocyte colony-stimulating factor concentrations in neutropenic, parvoviral enteritis-infected puppies. *J Vet Intern Med*, 1999; 13(6): 581-586.
- Cooper E. Pathophysiology of Shock. Section 4 Trauma and Resuscitation. Chapter 152. In: *Textbook of Small Animal Emergency Medicine*. Drobatz, KJ, Hopper K, Rozanski EA, Silverstein DC. (Eds.). 2018; p. 981.
- Dabrowski R, Wawron W, Kostro K. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. *Theriogenology*, 2007; 67(2): 321-327.
- Davis H, Jensen T, Johnson A, Knowles P, Meyer R, Rucinsky R, Shafford H. American Association of Feline Practicioners; American Animal Hospital Association. 2013 AAHA/AAFP fluid therapy guidelines for dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc*, 2013; 49(3): 149-159.
- Day MJ, Horzinek MC, Schultz RD, Squires RA. WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J Small Anim Pract*, 2016; 57(1): E1-E45.
- De la Puente-Redondo VA, Siedek EM, Benchaoui HA, Tilt N, Rowan TG, Clemence RG. The anti-emetic efficacy of maropitant (Cerenia) in the treatment of ongoing emesis caused by a wide range of underlying clinical aetiologies in canine patients in Europe. *J Small Anim Pract*, 2007; 48(2): 93-98.
- De Mari K, Maynard L, Eun HM, Lebreux B. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled field trial. *Vet Rec*, 2003; 152(4): 105-108.
- Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus--a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol*, 2012; 155(1): 1-12.
- Decaro N, Campolo M, Desario C, Elia G, Martella V, Lorusso E, Buonavoglia C. Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals*. 2005; 33(4): 261-267.

- Decaro N, Desario C, Addie DD, Martella V, Vieira MJ, Elia G, Zicola A, Davis C, Thompson G, Thiry E, Truyen U, Buonavoglia C. The study molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerg Infect Dis*, 2007; 13(8): 1222-1224.
- Decaro N, Desario C, Billi M, Lorusso E, Colaianni ML, Colao V, Elia G, Ventrella G, Kusi I, Bo S, Buonavoglia C. Evaluation of an in-clinic assay for the diagnosis of canine parvovirus. *Vet J*, 2013; 198(2): 504-507.
- Decaro N, Desario C, Campolo M, Elia G, Martella V, Ricci D, Lorusso E, Buonavoglia C. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *J Vet Diagn Invest*, 2005; 17(2): 133-138.
- DeClue AE, Sharp CR, Harmon M. Plasma inflammatory mediator concentrations at ICU admission in dogs with naturally developing sepsis. *J Vet Intern Med*, 2012; 26(3): 624-630.
- Delehedde M, Devenyns L, Maurage CA, Vivès RR. Endocan in cancers: a lesson from a circulating dermatan sulfate proteoglycan. *Int J Cell Biol*, 2013; 2013: 705027.
- Dossin O, Rupassara SI, Weng HY, Williams DA, Garlick PJ, Schoeman JP. Effect of parvoviral enteritis on plasma citrulline concentration in dogs. *J Vet Intern Med*, 2011; 25(2): 215-221.
- Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet J*, 2010; 185(1): 23-27.
- Ford J, McEndaffer L, Renshaw R, Molesan A, Kelly K. Parvovirus infection is associated with myocarditis and myocardial fibrosis in young dogs. *Vet Pathol*, 2017; 54(6): 964-971.
- Girardot T, Rimmelé T, Venet F, Monneret G. Apoptosis-induced lymphopenia in sepsis and other severe injuries. *Apoptosis*, 2017; 22(2): 295-305.
- Goddard A, Leisewitz AL, Christopher MM, Duncan NM, Becker PJ. Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *J Vet Intern Med*, 2008; 22(2): 309-316.
- Goddard A, Leisewitz AL. Canine parvovirus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2010; 40(6): 1041-1053.
- Grigoriu BD, Depontieu F, Scherpereel A, Gourcerol D, Devos P, Ouatas T, Lafitte JJ, Copin MC, Tonnel AB, Lassalle P. Endocan expression and relationship with

- survival in human non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2006; 12(15): 4575-4582.
- Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2005; 6(11): 1045-1056.
- Güneş V, Uyanık F, Eren M, Kibar M, Aslan Ö, Onmaz A. Dilate kardiyomiyopati, distemper ya da parvoviral infeksiyonlu köpeklerde kardiyak troponinin hızlı analizi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2014; 20(6): 921-927.
- Hauptman JG, Walshaw R, Olivier NB. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Vet Surg*, 1997; 26(5): 393-397.
- Henry CB, Duling BR. TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000; 279(6): H2815-2823.
- Hillström A, Hagman R, Tvedten H, Kjelgaard-Hansen M. Validation of a commercially available automated canine-specific immunoturbidimetric method for measuring canine C-reactive protein. *Vet Clin Pathol*, 2014; 43(2): 235-243.
- Hindenberg S, Keßler M, Zielinsky S, Langenstein J, Moritz A, Bauer N. Evaluation of a novel quantitative canine species-specific point-of-care assay for C-reactive protein. *BMC Vet Res*, 2018; 14:99.
- Houston DM, Ribble CS, Head LL. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *J Am Vet Med Assoc*, 1996; 208(4): 542-546.
- Ioakeimidou A, Pagalou E, Kontogiorgi M, Antoniadou E, Kaziani K, Psaroulis K, Giamarellos-Bourboulis EJ, Prekates A, Antonakos N, Lassale P, Gogos C; Hellenic Sepsis Study Group. Increase of circulating endocan over sepsis follow-up is associated with progression into organ dysfunction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2017; 36(10): 1749-1756.
- Johnson RH, Smith JR. Epidemiology and pathogenesis of canine parvovirus. *Aust Vet Pract*, 1983; 13(1): 31.
- Kailasan S, Agbandje-McKenna M, Parrish CR. Parvovirus family conundrum: What makes a killer? *Annu Rev Virol*, 2015; 2(1): 425-450.
- Kali A, Shetty KS. Endocan: a novel circulating proteoglycan. *Indian J Pharmacol*, 2014; 46(6): 579-583.
- Kalli IV, Adamama-Moraitou KK, Patsika MN, Pardali D, Steiner JM, Suchodolski JS, Menexes G, Brellou GD, Rallis TS. Prevalence of increased canine pancreas-

- specific lipase concentrations in young dogs with parvovirus enteritis. *Vet Clin Pathol*, 2017; 46(1): 111-119.
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th Ed, Academic Press, 2008.
- Kaya, E, Akata I, Bakırcı S, Dereli D, Küçüküven, E, Yılmaz İ. İmmünokromatografik kart testlerin çalışma prensibi ve üretim teknikleri. *Düzce Med J*, 2014; 16(3): 45-53.
- Klenner S, Bauer N, Moritz A. Evaluation of three automated human immunoturbidimetric assays for the detection of C-reactive protein in dogs. *J Vet Diagn Invest*, 2010; 22(4): 544-552.
- Kocaturk M, Martinez S, Eralp O, Tvarijonaviciute A, Ceron J, Yilmaz Z. Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. *J Small Anim Pract*, 2010; 51(9): 478-483.
- Kocatürk E, Canik A, Alataş Ö. Investigation of unnecessary laboratory testing by using fpsa and serum lipids. *Türk Klinik Biyokim Derg*, 2015; 13(3): 101-106.
- Kramer JM, Meunier PC, Pollock RV. Canine parvovirus: update. *Vet Med Small Anim Clin*, 1980; 75(10): 1541-1555.
- Krentz T, Allen S. Bacterial translocation in critical illness. *J Small Anim Pract*, 2017; 58(4): 191-198.
- Lamm CG, Rezabek GB. Parvovirus infection in domestic companion animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2008; 38(4): 837-850.
- Lassalle P, Molet S, Janin A, Heyden JV, Tavernier J, Fiers W, Devos R, Tonnel AB. ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. *J Biol Chem*, 1996; 271(34): 20458-20464.
- Latimer KS, Duncan & Prasse's *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*, 5th Ed, Wiley-Blackwell, 2011
- Le Moine O, Devière J, Devaster JM, Crusiaux A, Durand F, Bernuau J, Goldman M, Benhamou JP. Interleukin-6: an early marker of bacterial infection in decompensated cirrhosis. *J Hepatol*, 1994; 20(6): 819-824.
- Leroy X, Aubert S, Zini L, Franquet H, Kervoaze G, Villers A, Delehedde M, Copin MC, Lassalle P. Vascular endocan (ESM-1) is markedly overexpressed in clear cell renal cell carcinoma. *Histopathology*, 2010; 56(2): 180-187.

- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 2003; 31(4): 1250-1256.
- Lobetti RG, Joubert KE, Picard J, Carstens J, Pretorius E. Bacterial colonization of intravenous catheters in young dogs suspected to have parvoviral enteritis. *J Am Vet Med Assoc*, 2002; 220(9): 1321-1324.
- Marenzoni ML, Calò P, Foiani G, Tossici S, Passantino G, Decaro N, Mandara MT. Porencephaly and Periventricular Encephalitis in a 4-month-old Puppy: Detection of Canine Parvovirus Type 2 and Potential Role in Brain Lesions. *J Comp Pathol*, 2019; 169: 20-24.
- Markovich JE, Stucker KM, Carr AH, Harbison CE, Scarlett JM, Parrish CR. Effects of canine parvovirus strain variations on diagnostic test results and clinical management of enteritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 2012; 241(1): 66-72.
- Maurage CA, Adam E, Minéo JF, Sarrazin S, Debunne M, Siminski RM, Baroncini M, Lassalle P, Blond S, Delehedde M. Endocan expression and localization in human glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2009;68(6): 633-641.
- Mazzaferro EM. Update on Canine Parvoviral Enteritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2020; 50(6): 1307-1325.
- McCaw DM, Hoskins JD. Canine Viral Enteritis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. Green CE, (Ed.) St Louis (MO): Saunders, 2006; p. 63-73.
- McClure V, van Schoor M, Thompson PN, Kjelgaard-Hansen M, Goddard A. Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with canine parvovirus. *J Am Vet Med Assoc*, 2013; 243(3): 361-366.
- Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: the importance of viremia. *Vet Pathol*, 1985; 22(1): 60-71.
- Miao LH, Song Q, Liu H, Pan L, Zhou FH. [Clinical study of prognostic value of interleukin-6 in severe acute pancreatitis]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2013; 25(4): 238-241.
- Mitchell KD, Kruth SA, Wood RD, Jefferson B. Serum acute phase protein concentrations in dogs with autoimmune hemolytic anemia. *J Vet Intern Med*, 2009; 23(3): 585-591.

- Mohr AJ, Leisewitz AL, Jacobson LS, Steiner JM, Ruaux CG, Williams DA. Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *J Vet Intern Med*, 2003; 17(6): 791-798.
- Moritz A, Fickenschner Y, Meyer K, Failing K, Weiss DJ. Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Vet Clin Pathol*, 2004; 33(1): 32-38
- Mylonakis ME, Ceron JJ, Leontides L, Siarkou VI, Martinez S, Tvarijonaviciute A, Koutinas AF, Harrus S. Serum acute phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. *J Vet Intern Med*, 2011; 25(4): 811-817.
- Mylonakis ME, Kalli I, Rallis TS. Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Vet Med (Auckl)*, 2016; 7: 91-100.
- Nandi S, Kumar M. Canine parvovirus: current perspective. *Indian J Virol*, 2010; 21(1): 31-44.
- Narishetty ST, Galvan B, Coscarelli E, Aleo M, Fleck T, Humphrey W, McCall RB. Effect of refrigeration of the antiemetic Cerenia (maropitant) on pain on injection. *Vet Ther*, 2009; 10(3): 93-102.
- Naseri A, Gulersoy E, Ider M, Durgut M, Erturk A, Avci Ç, Koral E, Sevinc M, Ok, M. Serum biomarkers of endothelial glycocalyx injury in canine parvoviral infection. *Austral J Vet Sci*, 2020; 52: 95-101.
- Naugler WE, Karin M. The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med*, 2008; 14(3): 109-119.
- Naugler WE, Sakurai T, Kim S, Maeda S, Kim K, Elsharkawy AM, Karin M. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science*, 2007; 317(5834): 121-124.
- Nelson A, Berkestedt I, Schmidtchen A, Ljunggren L, Bodelsson M. Increased levels of glycosaminoglycans during septic shock: relation to mortality and the antibacterial actions of plasma. *Shock*, 2008; 30(6): 623-627.
- Nielsen L, Toft N, Eckersall PD, Mellor DJ, Morris JS. Serum C-reactive protein concentration as an indicator of remission status in dogs with multicentric lymphoma. *J Vet Intern Med*, 2007; 21(6): 1231-1236.

- Ohshima T, Mochizuki M. Evidence for recombination between feline panleukopenia virus and canine parvovirus type 2. *J Vet Med Sci*, 2009; 71(4): 403-408.
- Otto CM, Rieser TM, Brooks MB, Russell MW. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. *J Am Vet Med Assoc*, 2000; 217(10): 1500-1504.
- Panda D, Patra RC, Nandi S, Swarup D. Oxidative stress indices in gastroenteritis in dogs with canine parvoviral infection. *Res Vet Sci*, 2009; 86(1): 36-42.
- Planellas M, Bassols A, Siracusa C, Saco Y, Giménez M, Pato R, Pastor J. Evaluation of serum haptoglobin and C-reactive protein in dogs with mammary tumors. *Vet Clin Pathol*, 2009; 38(3): 348-352.
- Pollack RV, Carmichael LE. Canine Viral Enteritis. In: *Manual of Small Animal Infectious Diseases*. Barlough JE, (Ed.). London: Churchill Livingstone, 1988; p 101-107.
- Pollock RV, Carmichael LE. Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleukopenia virus vaccines. *Cornell Vet*, 1982; 72(1): 16-35.
- Pollock RV, Coyne MJ. Canine parvovirus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1993; 23(3): 555-568.
- Pollock RV. Experimental canine parvovirus infection in dogs. *Cornell Vet*, 1982; 72(2): 103-119.
- Pollock RV. The parvoviruses. II. Canine parvovirus. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 1984; 6 (7): 653-664.
- Prittie J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *J Vet Emerg Crit Care*, 2004; 14: 167-176.
- Proksch AL, Unterer S, Speck S, Truyen U, Hartmann K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. *Vet J*, 2015; 204(3): 304-308.
- Purvis D, Kirby R. Systemic inflammatory response syndrome: septic shock. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1994; 24(6): 1225-1247.
- Rallis TS, Papazoglou LG, Adamama-Moraitou KK, Prassinou NN. Acute enteritis or gastroenteritis in young dogs as a predisposing factor for intestinal intussusception: a retrospective study. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2000; 47(8): 507-511.
- Ramsey DS, Kincaid K, Watkins JA, Boucher JF, Conder GA, Eagleson JS, Clemence RG. Safety and efficacy of injectable and oral maropitant, a selective neurokinin

- 1 receptor antagonist in a randomized clinical trial for treatment of vomiting in dogs. *J Vet Pharmacol Ther*, 2008; 31(6): 538-543.
- Rau S, Kohn B, Richter C, Fenske N, Küchenhoff H, Hartmann K, Härtle S, Kaspers B, Hirschberger J. Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Vet Clin Pathol*, 2007; 36(3): 253-260.
- Rennel E, Mellberg S, Dimberg A, Petersson L, Botling J, Ameer A, Westholm JO, Komorowski J, Lassalle P, Cross MJ, Gerwins P. Endocan is a VEGF-A and PI3K regulated gene with increased expression in human renal cancer. *Exp Cell Res*, 2007; 313(7): 1285-1294.
- Sarrazin S, Adam E, Lyon M, Depontieu F, Motte V, Landolfi C, Lortat-Jacob H, Bechard D, Lassalle P, Delehedde M. Endocan or endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1): a potential novel endothelial cell marker and a new target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta*, 2006; 1765(1): 25-37.
- Sarrazin S, Lyon M, Deakin JA, Guerrini M, Lassalle P, Delehedde M, Lortat-Jacob H. Characterization and binding activity of the chondroitin/dermatan sulfate chain from Endocan, a soluble endothelial proteoglycan. *Glycobiology*, 2010; 20(11): 1380-1388.
- Savigny MR, Macintire DK. Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *J Vet Emerg Crit Care*, 2010; 20(1): 132-142.
- Schaudien D, Polizopoulou Z, Koutinas A, Schwab S, Porombka D, Baumgärtner W, Herden C. Leukoencephalopathy associated with parvovirus infection in Cretan hound puppies. *J Clin Microbiol*, 2010; 48(9): 3169-3175.
- Scherpereel A, Depontieu F, Grigoriu B, Cavestri B, Tsicopoulos A, Gentina T, Jourdain M, Pugin J, Tonnel AB, Lassalle P. Endocan, a new endothelial marker in human sepsis. *Crit Care Med*, 2006; 34(2): 532-537.
- Scherpereel A, Gentina T, Grigoriu B, Sénéchal S, Janin A, Tsicopoulos A, Plénat F, Béchard D, Tonnel AB, Lassalle P. Overexpression of endocan induces tumor formation. *Cancer Res*, 2003; 63(18): 6084-6089.
- Schoeman JP, Goddard A, Herrtage ME. Serum cortisol and thyroxine concentrations as predictors of death in critically ill puppies with parvoviral diarrhea. *J Am Vet Med Assoc*, 2007; 231(10): 1534-1539.

- Schoeman JP, Herrtage ME. Serum thyrotropin, thyroxine and free thyroxine concentrations as predictors of mortality in critically ill puppies with parvovirus infection: a model for human paediatric critical illness? *Microbes Infect*, 2008; 10(2): 203-207.
- Schultz RD, Thiel B, Mukhtar E, Sharp P, Larson LJ. Age and long-term protective immunity in dogs and cats. *J Comp Pathol*, 2010; 142: S102-108.
- Shah S, Sood N, Wani N, Gupta K, Singh A. Haemato-biochemical changes in canine parvoviral infection. *Indian J Vet Pathol*, 2013; 37(2): 131-133.
- Shida T. Characteristics of C-reactive protein (CRP), α 1-acid glycoprotein (AAG) and serum amyloid a (SAA) in dogs and cats with malignant Cancer. *Intern J Appl Res Vet Med*, 2011; 9: 376–381.
- Sime TA, Powell LL, Schildt JC, Olson EJ. Parvoviral myocarditis in a 5-week-old Dachshund. *J Vet Emerg Crit Care*, 2015; 25(6): 765-769.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 2016; 315(8): 801-810.
- Smith-Carr S, Macintire DK, Swango LJ. Canine parvovirus. Part I. Pathogenesis and vaccination. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 1997; 19(2): 125-133.
- Steinmetz HT, Herbertz A, Bertram M, Diehl V. Increase in interleukin-6 serum level preceding fever in granulocytopenia and correlation with death from sepsis. *J Infect Dis*, 1995; 171(1): 225-228.
- Strom LM, Reis JC, Brown CC. Parvoviral myocarditis in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 2015; 246(8): 853-855.
- Sykes JE. Canine Parvovirus Infections and other Viral Enteritides. In: *Canine and Feline Infectious Disease*. 1st ed. Sykes JE, (Ed.). St Louis, MO: Elsevier, 2014; p 141-151.
- Trautwein, C, CaellesC, Van Der G, Peter H, Tony K, Michael C, Mario. Transactivation by NF-IL6/LAP is enhanced by phosphorylation of its activation domain. 1993; 364: 544-547.

- Turk J, Miller M, Brown T, Fales W, Fischer J, Gosser H, Nelson S, Shaw D, Solorzano R. Coliform septicemia and pulmonary disease associated with canine parvoviral enteritis: 88 cases (1987-1988). *J Am Vet Med Assoc*, 1990; 196(5): 771-773.
- Tvedten HW. Hematology of the normal dog and cat. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1981; 11(2): 209-217.
- Twark L, Dodds WJ. Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titers for determining revaccination strategies in healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 2000; 217(7): 1021-1024.
- Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit Care*, 2019; 23(1): 16.
- Viitanen SJ, Laurila HP, Lilja-Maula LI, Melamies MA, Rantala M, Rajamäki MM. Serum C-reactive protein as a diagnostic biomarker in dogs with bacterial respiratory diseases. *J Vet Intern Med*, 2014; 28(1): 84-91.
- Waner T, Naveh A, Wudovsky I, Carmichael LE. Assessment of maternal antibody decay and response to canine parvovirus vaccination using a clinic-based enzyme-linked immunosorbent assay. *J Vet Diagn Invest*, 1996; 8(4): 427-432.
- Wang J, Cheng S, Yi L, Cheng Y, Yang S, Xu H, Zhao H, Yan X, Wu H. Evidence for natural recombination between mink enteritis virus and canine parvovirus. *Virology*, 2012; 9: 252.
- Woldemeskel M, Liggett A, Ilha M, Saliki JT, Johnson LP. Canine parvovirus-2b-associated erythema multiforme in a litter of English Setter dogs. *J Vet Diagn Invest*, 2011; 23(3): 576-580.
- Yamamoto S, Shida T, Miyaji S, Santsuka H, Fujise H, Mukawa K, Furukawa E, Nagae T, Naiki M. Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. *Vet Res Commun*, 1993; 17(2): 85-93.
- Yilmaz Z, Senturk S. Characterisation of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. *J Small Anim Pract*, 2007; 48(11): 643-650.
- Zhang SM, Zuo L, Zhou Q, Gui SY, Shi R, Wu Q, Wei W, Wang Y. Expression and distribution of endocan in human tissues. *Biotech Histochem*, 2012; 87(3): 172-178.

PARVOVİRAL ENTERİSTİSLİ KÖPEKLERDE YANGISAL BİYOBELİRTEÇ OLARAK ENDOTEL HÜCRE SPESİFİK MOLEKÜL-1'İN (ENDOCAN) ÖNEMİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 14	% 13	% 1	% 6
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 3
2	Submitted to Saglik Bilimleri Universitesi Öğrenci Ödevi	% 2
3	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 2
4	acikerisim.erbakan.edu.tr İnternet Kaynağı	% 2
5	veteriner.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	www.acarindex.com İnternet Kaynağı	% 1
7	acikerisim.harran.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
8	acikerisim.kku.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

acikerisim.medipol.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Mehmet Mustafa OFLAZ

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

EĞİTİM

<u>DERECE</u>	<u>KURUM</u>	<u>MEZUNİYET</u>
<u>Yüksek Lisans</u>	Erciyes Üniversitesi	2022
<u>Lisans</u>	Kafkas Üniversitesi	2019
<u>Lise</u>	Hasan Adalı Anadolu Lisesi	2011

YABANCI DİL

İNGİLİZCE (B1)