

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSHALLİ KÖPEKLERDE
GASTROİNTESTİNAL BİYOBELİRTEÇLERİN
ARAŞTIRILMASI

TUGAY ŞEN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serdar PAŞA

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-20032 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2021

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Tugay ŞEN tarafından hazırlanan “İshalli Köpeklerde Gastrointestinal Biyobelirteçlerin Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:19.11.2021

Üye (T.D.) :Prof. Dr. Serdar PAŞA, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye :Prof. Dr. Kerem URAL, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye :Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye :Doç. Dr. Songül ERDOĞAN, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye :Dr.Öğr.Üyesi Canberk BALIKÇI, Harran Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

.....
Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim ve öğretimim boyunca hoşgörü ve sabrını eksik etmeyen, bana her konuda yardımcı olan ve yol gösteren, tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Serdar PAŞA'ya,

Bu süreçte bilgi, birikim ve tecrübelerinden yararlanırken bana her konuda destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Kerem URAL, Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN, Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN ve Doç. Dr. Songül ERDOĞAN'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Uzm. Vet. Hek. Engin ŞİMŞEK, Uzm. Vet. Hek. Ali Aydın, Uzm. Vet. Hek. Halil İbrahim ADAK, Uzm. Vet. Hek. Ali MULLA, Öğr. Gör. Tahir ÖZALP, Uzm. Vet. Hek. Gözde BAĞCI, Uzm. Vet. Hek. Deniz Sude ATEŞ, Uzm. Vet. Hek. Pelin KANDEMİR, Uzm. Vet. Hek. Seray ETİZEL, Vet. Hek. Elif TÜRK, Vet. Hek. Mutlu MANULBOĞA, Vet. Hek. Gizem GÖNÜLVEREN ve Arş. Gör. İsmail GÜNAL'a,

Örnek toplamamda bana büyük yardımları dokunan Vet. Hek. adayı Nickolaus Osman İBRAHİMBAŞ ve Vet. Hek. adayı Hasan Talha SERÇE'ye,

Bu süreç boyunca tüm zorluk ve sıkıntılarımdayan yanımda olan, verdiği manevi destek ile bu tez çalışmasını tamamlamamda büyük katkısı bulunan Vet. Hek. adayı Gamze Yağmur SAPMAZ'a,

Hayatımda aldığım her kararda arkamda duran, maddi ve manevi tüm imkanları bana sağlayan, Yüksek lisans eğitimimi tamamlamamda şüphesiz en büyük katkıyı sağlayan başta babam Adalet ŞEN ve annem Sevda ŞEN olmak üzere tüm aileme sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Köpeklerde İshal	3
2.1.1. Etiyoloji	3
2.1.1.1. Akut ve Kronik İshal	5
2.1.2. Prevalans ve İnsidans	5
2.1.3. Patofizyoloji	6
2.2. Bağırsak Geçirgenliği ve Sızıntılı Bağırsak	9
2.2.1. Patojen Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu	11
2.2.2. Stres Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu	11
2.2.3. Mikrobiyota Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu	12
2.3. Köpeklerde Gastrointestinal Biyobelirteçler	13
2.3.1. Zonulin	14
2.3.1.1. Artmış Bağırsak Geçirgenliği ve Zonulin	14
2.3.1.2. Spesifik Hastalıklarda Zonulinin Rolü	17
2.3.1.2.1. Çölyak Hastalığı	17
2.3.1.2.2. Tip 1 Diyabetes Mellitus	18
2.3.1.2.3. Yangısal Bağırsak Hastalığı	19
2.3.1.2.4. Multiple Skleroz	19
2.3.1.2.5. Obezite	19
2.3.1.2.6. Akut Akciğer Hasarı	19

2.3.1.2.7. Astım	20
2.3.1.2.8. Nörolojik Hastalıklar	20
2.3.1.2.9. Septisemi	20
2.3.2. Laktat	21
2.3.2.1. Laktat Metabolizması	21
2.3.2.2. L- ve D-Laktat	23
2.3.2.3. Gastrointestinal Biyobelirteç Olarak D-laktat	23
2.3.2.4. Acil Hastalarda Plazma Laktat Konsantrasyonu	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Gereç	26
3.1.1. Hayvan Materyali	26
3.2. Yöntem	26
3.2.1. Örneklerin Toplanması	26
3.2.2. Laboratuvar Değerlendirme	26
3.2.2.1. Zonulin Analizi	26
3.2.2.2. Laktat Analizi	30
3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme	30
4. BULGULAR	31
4.1. Demografik Bulgular	31
4.2. Laktat ve Zonulin Seviyeleri	31
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	39
EKLER	52
Ek-1 (ADÜ-HADYEK)	52
BİLİMSEL ETİK BEYANI	53
ÖZ GEÇMİŞ	54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin trifosfat
CID	: Kronik yangısal hastalık
E. coli	: Escherichia coli
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
HLA	: İnsan lökosit antijeni
IBS	: İrritabl bağırsak sendromu
LDH	: laktat dehidrojenaz
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotit
PAR₂	: Proteazla aktive edilmiş reseptör 2
PCK-α	: Protein kinaz C alfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Villus ve kriptlerin morfolojisi	7
Şekil 2.	Normal ve bozulmuş bağırsak bariyeri	10
Şekil 3.	Gliadin ve bakteri kaynaklı zonulin salınımının mekanizması ve ardından bağırsak geçirgenliğinde artış	17
Şekil 4.	Piruvatın kullanıldığı metabolik olaylar	22

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Canine Zonulin ELISA Kiti	27
Resim 2.	Örneklerin ELISA kuyucuklarına eklenmesi	28
Resim 3.	PBS ile yıkama	28
Resim 4.	TMB'nin peroksidaz ve asit etkisi ile renk değiştirmesi	29
Resim 5.	ELx800 model microplate okuyucu	29

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	İnce ve kalın bağırsak ishallerinin ayırıcı bulguları	5
Tablo 2.	Patofizyolojisine göre ishal nedenleri	9
Tablo 3.	Köpeklerde sızıntılı bağırsağın spesifik nedenleri	11
Tablo 4.	Zonulin ile ilişkili olan bazı hastalıklar	15
Tablo 5.	Hiperlaktateminin sınıflandırılması ve yaygın nedenleri	25

ÖZET

İSHALLİ KÖPEKLERDE GASTROİNTESTİNAL BİYOBELİRTEÇLERİN ARAŞTIRILMASI

Şen T. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021.

Amaç: Bu çalışmada, çeşitli nedenlere bağlı ishal gelişen köpeklerde gastrointestinal biyobelirteçler arasında yer alan zonulin ve laktat düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya etiyolojik olarak sınıflandırılmayan 30 ishalleri köpek ile 15 sağlıklı köpek dahil edildi. Her bir köpeğin *Vena cephalica antebrachii*'sinden tekniğine uygun olarak kan örnekleri alındı. Antikoagülsüz tüplere alınan kan örneklerinden ELISA prensibine dayalı ticari test kiti (Canine Zonulin ELISA Kit, Cat No. MBS2605074) kullanılarak serum zonulin düzeyleri ölçüldü. Heparinli tüplere alınan kan örneklerinden ise el analizatörü (Lactate Pro 2, Arkray, Hollanda) kullanılarak plazma laktat seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: Serum zonulin konsantrasyonlarının ishalleri köpeklerde $9,80 \pm 6,7$ ng/ml seviyesinde bulunmasına karşın sağlıklı köpeklerde serum zonulin konsantrasyonlarının $1,94 \pm 1,4$ ng/ml düzeyinde olduğu tespit edildi. İshalleri köpeklerin plazma laktat seviyelerinin ise $9,02 \pm 4,7$ mmol/L seviyesinde olduğu buna karşın sağlıklı köpeklerin plazma laktat konsantrasyonlarının $1,21 \pm 1,4$ mmol/L düzeyinde bulunduğu tespit edildi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede hem zonulin hem de laktat konsantrasyonlarının ishalleri köpekler için yüksek düzeyde ($p < 0,000$) anlamlı olduğu tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak ishalleri köpeklerde gastrointestinal biyobelirteçlerden zonulin ve laktat düzeylerinin kandaki konsantrasyonlarının arttığı ve ishale bağlı olarak bağırsaklarda meydana gelebilecek hasarın tespitinde zonulin ve laktatın dikkate alınabileceği, bu belirteçlerin ishallerin prognozu ve sağaltımının takibinde kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: D-laktat, İshal, Köpek, Zonulin

ABSTRACT

INVESTIGATION OF GASTROINTESTINAL BIOMARKERS IN DOGS WITH DIARRHEA

Şen T. Aydın Adnan Menderes University Health Sciences Institute of Internal Medicine (Veterinary) Program, Master's Thesis, Aydın, 2021.

Objective: In this study, it was aimed to evaluate the zonulin and lactate levels, which are among the gastrointestinal biomarkers, in dogs with diarrhea due to various reasons.

Metarial and Methods: Thirty dogs with diarrhea and 15 healthy dogs, which were not classified as etiological, were included in the study. Blood samples were taken from Vena cephalica antebrachii of each dog in accordance with the technique. Serum zonulin levels were measured from the blood samples collected in tubes without anticoagulant, using the commercial test kit (Canine Zonulin ELISA Kit, Cat No. MBS2605074) based on the ELISA principle. Plasma lactate levels were measured using a handheld analyzer (Lactate Pro 2, Arkray, The Netherlands) from blood samples taken into heparinized tubes.

Results: While serum zonulin concentrations were found to be 9.80 ± 6.7 ng/ml in dogs with diarrhea, serum zonulin concentrations were found to be 1.94 ± 1.4 ng/ml in healthy dogs. It was determined that the plasma lactate levels of the dogs with diarrhea were 9.02 ± 4.7 mmol/L, whereas the plasma lactate concentrations of the healthy dogs were 1.21 ± 1.4 mmol/L. In the statistical evaluation, both zonulin and lactate concentrations were found to be highly significant ($p < 0.000$) for dogs with diarrhea.

Conclusion: As a result, it was concluded that the gastrointestinal biomarkers zonulin and lactate levels increased in blood in dogs with diarrhea and that zonulin and lactate could be taken into account in detecting the damage that may occur in the intestines due to diarrhea, and these markers could be used in the follow-up of the prognosis and treatment of diarrhea.

Keywords: D-lactate, Diarrhea, Dog, Zonulin

1. GİRİŞ

Geçtiğimiz birkaç yıl boyunca “bağırsak sağlığı” kavramı, beslenme uzmanları, veteriner hekimler ve bilim insanları arasında önemli bir konu haline gelmiştir (Kogut ve Arsenault, 2016). Hayvan sağlığını ve refahını izlemek ve herhangi bir besinsel müdahalenin hayvan performansı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için gastrointestinal fonksiyonelliğin tanımlanması çok önemlidir. Bağırsak sağlığı tanımlanmasına rağmen, gastrointestinal fonksiyonellik altı ana bölüm ile belirtilmiştir. Bu bölümler; Diyet, sindirim ve emilim, normal ve stabil mikrobiyota, bağışıklık durumu, bağırsak mukozası ve nöroendokrin-bağırsak motor işlevlerini içerir. Gastrointestinal fonksiyonellik için yapılan tüm bu tanımlar gastrointestinal fizyoloji, hayvan sağlığı, refah ve performansta kritik bir rol oynamaktadır (Celi ve diğerleri, 2017).

İnsan hekimliğinde olduğu gibi veteriner hekimlikte de gastrointestinal permeabilite, gastrointestinal bariyer fonksiyonu ve bağırsak endokrin sistemi ile ilişkili biyobelirteçlerin belirlenmesinde büyük bir boşluk bulunmaktadır (Celi ve diğerleri, 2017). Gastrointestinal biyobelirteçlerin gelişiminde, bağırsak bariyerini, fonksiyonelliğini ve gastrointestinal mikrobiyotanın ekolojisini etkileyen olayları anlayabilmemiz açısından oldukça önemlidir.

İntestinal epitel hücreleri arasında yer alan bağlantı odakları mukozal bariyer ve hücrelerarası iletimin düzenlenmesinde kritik rol oynamaktadır (Sturgeon ve Fasano, 2016). Zonulin, bu sıkı bağlantı odaklarının geri dönüşümlü geçirgenliğini düzenleyen bir proteindir. Yapılan klinik çalışmalarda, protein yapısında olan zonulinin bağırsak geçirgenliğinin bir biyolojik belirteci olarak gösterildiği rapor edilmiştir. Bununla birlikte zonulin mekanizmasının gastrointestinal mukozal bariyerde sağlıklı bağışıklık fonksiyonunu ve toleransı arttırmada önemli bir mekanizma olduğunu doğrulamaktadır. Zonulin sinyal yolunun düzensizliği, normal bağırsak bariyer fonksiyonunun bozulmasına ve bağışıklık tepkilerinin değişimine yol açmaktadır. Zaman içerisinde kandaki yüksek seviyelerdeki zonulin gastrointestinal mukozanın paraselüler geçirgenliğini artırarak, enflamatuvar, otoimmün ve neoplastik hastalıkların oluşumuna zemin hazırlayabilmektedir. Zonulin düzeyinin artması ile bağırsak geçirgenliğinin artması arasında pozitif bir ilişki bulunduğundan dolayı bu biyobelirtecin bağırsak bariyer fonksiyonunun eski haline getirilmesinde terapötik amaç için kullanılabilmesi de rapor edilmiştir (Fasano, 2012).

Zonulin, birçok kronik yangısal hastalığın (CID) patogenezinde yer almaktadır. Göz önünde bulundurulan hastalıkların farklı patogenezi olması rağmen mukozal toleransın bozulması ve CID oluşumu benzerlik göstermektedir. Fizyolojik koşullar altında mukozal antijen kaçığı sıkı bir şekilde kontrol edilir. Fizyolojik sınırları aşan zonulin üretimi mukozal bariyerin bozulmasına ve antijen kaçığına neden olur. Submukozaya geçen antijenler immun sistemi uyararak bağışıklık yanıtı başlatır. Eğer bu durum devam ederse, kalıcı bir immun yanıt oluşarak proinflatuar sitokinlerin artmasına neden olur. Böylece parasellüler yol daha fazla açılır ve antijen kaçığına arttığı bir kısır döngüyü başlatır. Bütün bu olaylar, mukozal toleransın bozulmasına ve birçok yangısal hastalığın gelişmesine zemin hazırlar (Sturgeon ve Fasano, 2016).

D-laktat ensefelopatisinin en yaygın nedenleri arasında malabsorptif sendromlar, ekzokrin pankreatik yetmezlik ve bağırsak rezeksiyonları dahil gastrointestinal sistem anormallikleri gösterilmektedir (Petersen, 2005). Bu ilişki memeli fizyolojisi ile açıklanabilir. Laktik asidin D-enantiomeri normalde memelilerden alınan serumda kayda değer miktarlarda mevcut değildir (Tubbs, 1965). Memelilerde D-laktat düzeyi, gastrointestinal sistemdeki karbonhidratların bakteriyel fermantasyonu gibi ekzojen kaynaklardan veya belirli metabolik hastalıklarda ve zehirlenmelerde ortaya çıkabilen alternatif metabolik sentez olayları ile artmaktadır (Christopher ve diğerleri, 1990). Gastrointestinal sistem anormallikleri olan köpeklerde laktat düzeyi, klinik olarak sağlıklı olan köpeklere göre önemli ölçüde yüksek çıktığı rapor edilmiştir (Michael ve diğerleri, 1998).

Bu çalışmada, çeşitli nedenlere bağlı ishal gelişen köpeklerde gastrointestinal fonksiyon bozukluklarını yansıtan biyobelirteçler arasında yer alan zonulin ve laktat düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Köpeklerde İshal

İshal, farklı etiyolojik nedenlere bağlı enfeksiyöz veya nonenfeksiyöz oluşabilen, defekasyon sıklığı ile birlikte dışkıının sıvı içeriği ve hacmindeki artışlar ile karakterize bir semptomdur. Yeni doğan ve yavru köpeklerde immun sistemin yeterli gelişmemesi ve regülasyon mekanizmasındaki yetersizlikten dolayı ishal daha sık görülmekte ve ciddi sonuçlara yol açmaktadır (Mila ve diğerleri, 2017; Münnich ve Küchenmeister, 2014).

2.1.1. Etiyoloji

İshalin etiyojisi köpeklerde karmaşık bir yapıya sahip olup, temel olarak enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz nedenler olarak ikiye ayrılır (Nind, 2011; Willard, 2013). İshal etki süresine göre de akut ve kronik olarak değerlendirilir. 14 günden az süren ishaller akut ve genellikle enfeksiyöz ishal olarak nitelendirilir (Schulz ve diğerleri, 2008).

İshali etiyojisine göre enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz, seyrine göre ise akut ve kronik olarak değerlendirmek klinik ve araştırma yönüyle oldukça önemlidir (Schulz ve diğerleri, 2008; Volkmann ve diğerleri, 2017). Köpeklerde ishal, etiyojisine göre aşağıda özetlenmiştir (Nind, 2011; Willard, 2013);

Enfeksiyöz ishaller;

- Viral etkenler
 - Canine parvovirus*
 - Canine coronavirus*
 - Canine paramyxovirus*
 - Canine rotavirus*
- Bakteriyel etkenler
 - Salmonella spp.*
 - Eschericia coli*
 - Campylobacter spp.*
 - Clostridium spp.*
 - Yersinia enterocolitica*

- Staphylococcus spp.*
- Leptospira spp.*
- Pseudomonas spp.*
- Proteus spp.*
- Paraziter etkenler
 - Giardia spp.*
 - Toxocara leonina*
 - Ancylostoma caninum*
 - Toxocara canis*
 - Trichuris vulpis*
 - Cryptosporidium parvum*
 - Strongyloides spp.*
 - Isospora canis*
 - Ollulanus tricuspis*
- Mikotik etkenler
 - Histoplasma capsulatum*
 - Aspergillus spp.*
 - Pythium spp.*
 - Candida albicans*
- Riketsiyal etkenler
 - Rickettsia rickettsii*
 - Neorickettsia elokominica*
 - Neorickettsia helminthoeca*

Non-enfeksiyöz ishaller;

- Sistemik hastalıklar
- Anatomik değişiklikler
- Yangısal değişiklikler
- Dolaşım bozuklukları
- İlaçlar
- İmmun yetmezlikler
- Toksinler
- Psikojenik nedenler

2.1.1.1. Akut ve Kronik İshal

İshal etki süresine göre 14 günden az sürüyorsa akut, 14 günden fazla sürüyorsa kronik olarak değerlendirilir (Marks, 2013).

Dışkıların geçmişi, klinik bulguları ve görünümü ishalin ince bağırsaktan mı yoksa kalın bağırsaktan mı kaynaklandığını ayırt etmek için kullanılır (Tablo 1). Bu farklılaşmalar, tanısal testler ve teşhis seçenekleri için, özellikle kronik ishallerde çok önemli bir yer tutar (Marks, 2013).

Tablo 1. İnce ve kalın bağırsak ishallerinin ayırıcı bulguları (Marks, 2013).

Bulgular	İnce Bağırsak	Kalın Bağırsak
Dışkılama Sıklığı	Normalden Biraz Fazla	Belirgin Şekilde Artar
Dışkı Hacmi	Normalden Fazla	Normalden Az
Dışkıda Mukus	Görülmez	Sıklıkla Görülür
Dışkıda Kan	Melena	Hematokhezi
Tenesmus	Görülmez	Sıklıkla Görülür
Aciliyet	Yok	Var
Dishezi	Görülmez	Sıklıkla Görülür
Kusma	Bazen Görülür	Nadiren Görülür
Kilo Kaybı	Sıklıkla Görülür	Nadiren Görülür
Steatore	Bazen Görülür	Sıklıkla Görülür

2.1.2. Prevalans ve İnsidans

İshal, evcil hayvan hekimliğinde çok yaygın bir problem olsa da, köpeklerde kedilerden daha yaygın olarak görülür veya ishal olan bir köpeğin veteriner hekim tarafından muayene edilmesi daha olasıdır. Yapılan bir çalışmada, 2 milyondan fazla köpek ve yaklaşık 430.000 kediden alınan teşhis raporunda, gastroenterit ve kolitin her ikisinin de köpekler için ilk 19 tanıya yer aldığı rapor edilmiştir (Banfield Pet Hospital, 2012).

İshalin insidansı üzerine yapılan bir çalışmada, doğumdan 2 yaşına kadar takip edilen 585 köpeğin çoğunda yalnızca bir kez ishal görülürken, tam aşılama ve antiparaziter uygulamalara rağmen yavru köpeklerde ishalin çok daha sık görüldüğü belirlenmiştir (Sævik

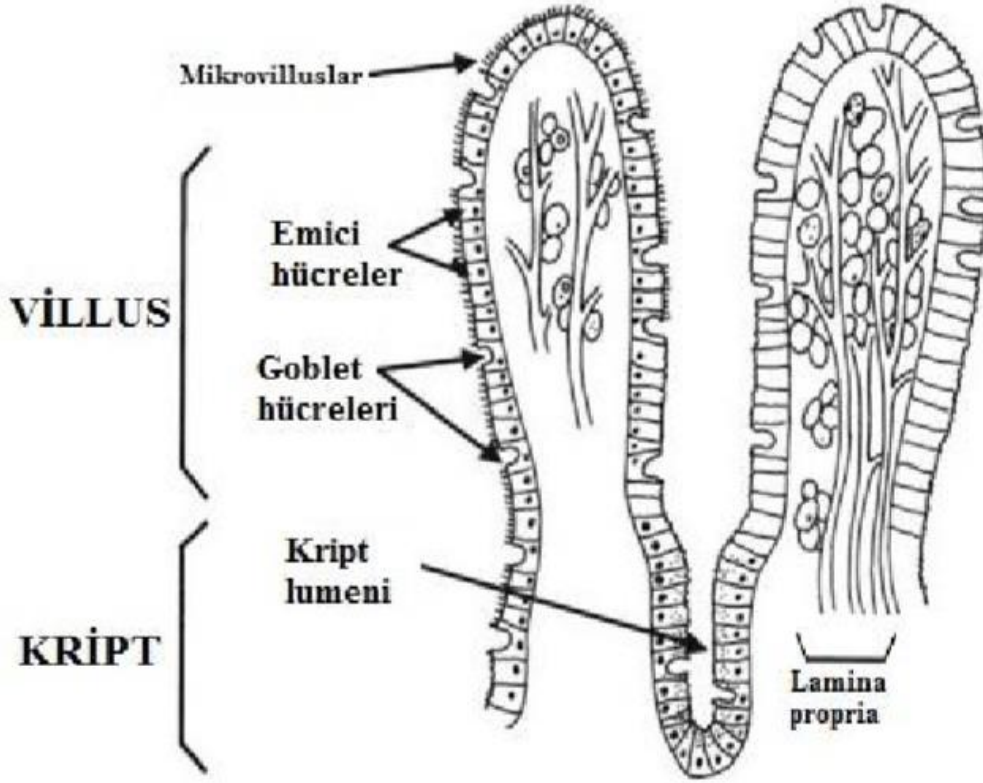
ve diğeri., 2012). Aynı çalışmada ishal riski 7-12 haftalık köpeklerin %16'sında görülürken, 12-18 aylık köpeklerde bu oran %5,4'e düştüğü rapor edilmiştir.

2.1.3. Patofizyoloji

İshaller genelde farklı etiyojoloji, klinik görünüm ve patogeneze sahiptir. Gastrointestinal bozuklukların en sık görülen semptomlarından biri olmasına rağmen farklı sistem hastalıklarına bağlı da görülebilmektedir (Schiller ve diğeri., 2014).

İnce bağırsaktan kaynaklanan ishaller, kalın bağırsak ishallerine kıyasla daha az dışkılama sayısı (günde 2-5) ve belirgin şekilde artmış sıvı içeriği ile karakterizedir (Salem, 2014). Akut gelişen ince bağırsak ishallerinin birçoğu enfeksiyöz kaynaklıdır. Bu ishallerde, dışkılama sırasında zorlanma ve abdominal gerginlik pek görülmezken, kusma ve kilo kaybı sık görülür (Moreno ve diğeri., 2017).

Karnivorların ince bağırsakları diğeri memelilere göre kısadır. Bu sebeple alınan besin maddelerinin tam sindirimi ve absorpsiyonu için bağırsak yüzeyinde lümene doğru çıkıntılar mevcuttur. Bu yapılar "*villus*" olarak adlandırılır ve bağırsak emilim yüzeyini on kata kadar artırır. Enterositler, villusları kaplayan mukozal epitel hücreleridir. Bu hücreler, sindirim kanalındaki mukusu üretmekle görevli Goblet hücreleri ve absorpsiyondan sorumlu hücreler olarak fonksiyonel iki birime ayrılır. Enterositlerin yüzeyinde, sindirim için gerekli enzimleri içeren "*mikrovillus*" adı verilen yapılar vardır. İki villus arası oluşan çöküntü "*kript*" adını alır ve kript epitelyumunda da enterositler dizilidir. "*Tight junction*", enterositler arasındaki sıkı bağlantıyı oluşturan yapılardır. Epitelyum tabakasının altında doku ve hücreleri besleyen "*Lamina propria*" adında damarca zengin katman bulunur (Şekil 1) (Burrows ve diğeri., 1995).



Şekil 1. Villus ve kriptlerin morfolojisi (Burrows ve diğerleri, 1995).

İnce bağırsak ishallerinin aksine kalın bağırsak ishallerinde dışkılama sayısı belirgin şekilde artmıştır. Günde 5 veya daha fazla sayıda dışkılama görülür ve dışkı kıvamı yumuşaktır. Dışkılama sırasında zorlanma ve ıkınma artmıştır. Hematokhezi ve dışkıda mukus görülebilir (Volkman ve diğerleri, 2017).

Fonksiyonel ve anatomik olarak kalın bağırsağın yapısı ince bağırsağın yapısından farklıdır. İnce bağırsakta bulunan villus ve mikrovilluslar, kalın bağırsak mukozasında bulunmaz. Kolonositler, kalın bağırsağın mukozal hücreleridir. Bu hücrelerin üretildiği kriptler, ince bağırsakta olduğu gibi kalın bağırsakta da bulunur (Burrows ve diğerleri, 1995). Mukus üretiminden sorumlu goblet hücreleri kolonositler arasına bol miktarda yerleşmiştir. Kolonositlerin en önemli görevi, dışkı kalın bağırsağın son bölümü olan rektuma ulaşmadan önce su ve sodyum klorür emilimini sağlamaktır. İnce bağırsaktan kolona gelen sıvının %90'ından fazlası kolonositler tarafından emilebilir ve gelen sıvı miktarı aşırı olsa dahi sağlıklı bir kolon bu miktarı kontrol altında tutabilecek fonksiyonel rezerve sahiptir. Ancak kolonositlerde oluşabilecek hasarlarda bu mekanizma bozulur ve ishale sonuçlanır (Volkman ve diğerleri, 2017). İnce bağırsaktan kalın bağırsağa gelen sindirilememiş besinler, burada bulunan laktik asit bakterileri tarafından fermantasyona uğrarlar. Uçucu yağ

asitleri ile birlikte açığa çıkan laktik asit, bağırsak içeriğinin osmolaritesini arttırarak dışkının daha da su almasına sebep olurken ishalin daha da şiddetlenmesine neden olur (Heyman, 2000).

İshalin oluşum nedenleri, aşağıdaki 4 temel mekanizma ile açıklanabilir (Willard, 2013).

Ozmotik ishal: Gıdaların ince bağırsakta sindirilemediği veya absorbe edilemediği durumlarda ozmolarite artarak, sıvıların enterositler tarafından taşınması ve absorpsiyonu engellenir. Bazı virüsler enterositleri hedef alarak ozmatik ishale neden olurlar. Villuslarda bulunan olgun enterositleri hedef alan “*Canine Coronavirüs*” ve “*Canine Rotavirüs*” ile köpeklerde ozmotik ishalin en önemli nedeni olarak bildirilen “*Canine Parvovirüs*” enfeksiyonlarının ozmotik ishale neden olduğu rapor edilmiştir (Willard, 2013).

Sekretuar ishal: Patojen bakterilerin salgıladığı toksinler, kriptlerin epitellerinde bulunan enterositleri uyarak salgı artışına neden olur. Bağırsak lümenine salınan aşırı sıvı ve elektrolitler sonucu ishal tablosu şekillenir. Kalın bağırsakta meydana gelen bakteriyel fermantasyon sonucu, sindirilemeyen safra asitleri ve hidroksillenmiş yağ asitleri oluşur. Oluşan fermantasyon ürünleri, sıvı sekresyonunu uyarak ishale sebep olur (Willard, 2013).

Mukozal bütünlük ve permeabilite bozukluğuna bağlı ishal: Bağırsak mukozal bütünlüğünün ve permeabilitenin bozulması ile absorpsiyonun sekteye uğraması sonucu oluşan ishaldir. Bağırsak mukozasını etkileyen İnflamatuvar, infiltratif veya ülseratif hastalıklar, mukozal yapının bozulmasına ve bağırsak lümenine sıvı geçmesine neden olur (Willard, 2013).

Motilite bozukluğuna bağlı ishal: Bağırsak motilitesinin artması sonucu hipermotilite gelişir. Bu durumda içeriğin mukozaya temas süresi kısalmır, sindirim ve emilim sekteye uğrar. Hipomotilite geliştiği durumlarda ise bağırsak içeriği, segmental kasılmaların azalması sonucu, bağırsak mukozasının dijesyon ve absorpsiyon kapasitesine yeterince maruz kalamaz. Bu iki durumda da bağırsak içeriğindeki hacim artışı peristaltik hareketleri arttırır ve ishal şekillenir (Salem, 2014).

Tablo 2. Patofizyolojisine göre ishal nedenleri (Lawrence ve Jonathan, 2015).

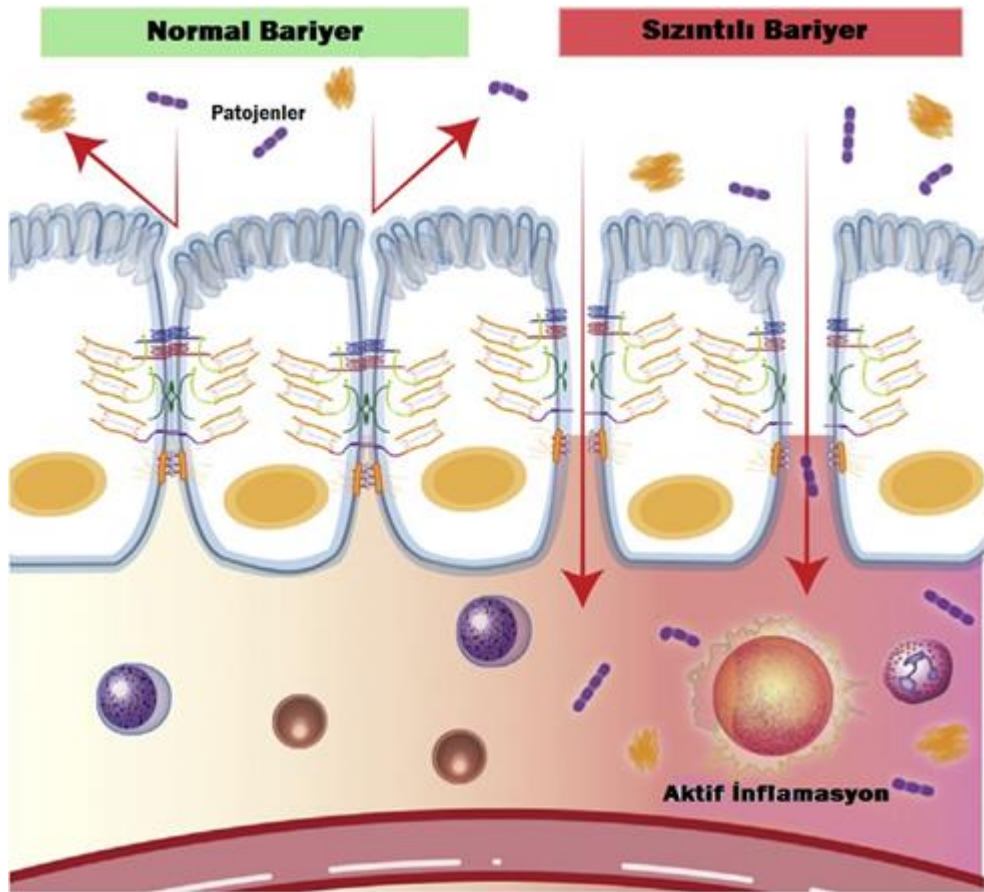
Ozmotik ishal	Ani diyet değişikliği
	Bozuk veya aşırı gıda tüketimi
	Maldigesyon (örneğin ekzokrin pankreas yetmezliği)
	Malabsorpsiyon (örneğin IBS ve intestinal lenfoma)
Viral enteritiser	
Sekretuar İshal	Patojenik bakteriyel toksinler
	Bakteriyel fermentasyon sonucu oluşan konjuge olmayan safra asitleri ve hidrosillenmiş yağ asitleri
	Giardiasis
Mukozal Permabilite Bozukluğuna Bağlı İshal	Gastrointestinal ülserasyon
	İntestinal inflamasyon
	İnfiltrasyon (neoplazi)
	Lenfanjektazi
Portal hipertansiyon	
Motilite Bozukluğu	Ani diyet değişikliği
	Bozuk gıda tüketimi
	IBS
	Sekonder motilite bozuklukları

2.2. Bağırsak Geçirgenliği ve Sızıntılı Bağırsak

Bağırsak geçirgenliği, mukus ile kombinasyon halinde bir difüzyon bariyeri oluşturan birkaç bileşenin etkileşimi ile belirlenir. Ayrıca mukus, villusları fiziksel sürtünmeden ve bakteriyel yapışmalardan korur (Farhadi ve diğerleri, 2003; Korjamo ve diğerleri, 2009). Bağırsak yüzeyinde bariyer görevi gören başka faktörler de vardır. Bunlar, mukozal yüzeydeki sıkı bağlantı odaklarını oluşturan fosfolipidler ve proteinler, lenfositlerin de dahil olduğu bağırsak immün sistemi ve bağırsak mikrobiyotasıdır (Farhadi ve diğerleri, 2003; Smithson ve diğerleri, 1981). Bağırsakta yaşayan karmaşık bir mikroorganizma topluluğu olan bağırsak mikrobiyotası diyet, yaş ve çevre şartlarına göre değişiklik gösterir. Bu canlılar, metabolik aktivite ve konakçı etkileşimleri yoluyla normal fizyolojiyi ve hastalıklara yatkınlığı etkiler (Lozupone ve diğerleri, 2012).

Bağırsak sistemi zararlı maddelere karşı bariyer görevi görürken, temel besinlerin, iyonların ve diğer bileşiklerin seçici emilimini içeren birçok hayati fonksiyona sahiptir. Bu bariyerin işlev bozukluğu ve bağırsak geçirgenliğindeki değişiklikler, "*sızıntılı bağırsak*" olarak adlandırılırken köpekler ve insanlar dahil tüm türler için önemli bir konudur

(Michielan ve D’Inca, 2015). İnsanlarda sızıntılı bağırsak, Crohn hastalığı gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarının ve Çölyak hastalığı gibi otoimmün hastalıkların patogenezi ile bağlantılıdır (Fasano, 2012). Sızıntılı bağırsaktaki hastalık veya ölümün sebebi, bağırsak duvarından sızan mikrobiyal toksinlerin ve patojenlerin, sistemik etkileri ve ardından ortaya çıkan inflamatuvar kaynaklı immünolojik yanıttır (Şekil 2). Bu nedenle sızıntılı bağırsak, hem akut yangısal durumlar ve tıkanıklıklar gibi çabuk gelişen olgularda, hem de kilo kaybı ve performansın düşmesine neden olan uzun süreli sinsi bozukluklarda tanımlanır (Tablo 3) (Stewart ve diğerleri, 2017).



Şekil 2. Normal ve bozulmuş bağırsak bariyeri (Stewart ve diğerleri, 2017).

Tablo 3. Köpeklerde sızıntılı bağırsağın spesifik nedenleri (Stewart ve diğerleri, 2017).

Akut inflamasyon	Proximal enteritis Kolitits
Kronik inflamasyon	Yangısal bağırsak hastalığı (IBD) Neoplazi
Disbiyozis	Diyet değişikliği Antibiyotik kullanımı
Obstrüksiyon	İleus Volvulus

2.2.1. Patojen Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu

Patojenik organizmaların konakçı bağırsak epitel hücreleri üzerindeki etkileri karmaşıktır. Bu patojen-konak etkileşimleri, normal bağırsak bariyerinde bozulmalara, inflamatuvar yanıtın oluşmasına ve normal sıvı ve elektrolit sekresyonunda bozulmalara neden olur (Berkes ve diğerleri, 2003). Enterik patojenler, bağırsak hücrelerinin yüzeyine bağlanabilir ve sıkı bağlantı proteinlerinin yapılarında değişikliklere sebep olabilirler. Patojenler tarafından üretilen toksinler hücre içi protein etkileşimlerini bozarak hücre hasarı artırır ve artmış hücre geçirgenlik nihayetinde hücre ölümü tetikler (Groschwitz ve Hogan, 2009). Bazı patojenler konakçı fizyolojisini değiştirmek için tek bir mekanizma kullanırken, *Salmonella* ve *E. coli* dahil bir grup patojen, intestinal epitelyumun hücre işlevlerini çoklu mekanizmalar yoluyla değiştirirler (Berkes ve diğerleri, 2003).

2.2.2. Stres Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu

Çeşitli stres faktörlerinin (fizyolojik, farmakolojik, psikolojik ve diğerleri) bağırsak bariyerini olumsuz etkilediği, insan ve hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır (Lambert, 2009). Farelerde yapılan bir çalışmada, sadece fiziksel kısıtlama ile plazma kortizol seviyelerinde artışa bağlı olarak oluşan akut stresin, normal gastrointestinal

işlevi değiştirmek için yeterli olduğu gösterilmiştir (Saunders ve diğerleri, 1994). Egzersiz de dahil olmak üzere diğer fiziksel stresörlerin etkisi, insanlar ve köpekler dahil olmak üzere çeşitli türlerde incelenmiştir. Yapılan diğer çalışmada, orta derecede egzersize katılan insanlarda, sodyum, klor, potasyum ve suyun jejunal emiliminde azalmalar olduğu belirlenmiştir (Barclay ve Turnberg, 1988). Sürekli yoğun egzersiz yapan Alaska kızak köpeklerinde ince bağırsak geçirgenliğinde gözlenen değişikliklerle birlikte serum ve idrarda laktuloz:ramnoz'a oranının arttığı rapor edilmiştir (Davis ve diğerleri, 2005). Egzersiz sırasında iskelet kasları ve deri dahil olmak üzere, çalışan dokulara yeterli kanın sağlanması amacıyla iç organlara giden kan akışı azalır ve gastrointestinal sistem göreceli olarak hipoperfüzyon durumunda kalır (Manohar, 1986). Stres kaynaklı oluşan bariyer disfonksiyonunun mekanizması, doku perfüzyonundaki değişiklikler ve değişen gastrointestinal motilite ile ilgilidir. Ancak etkiler yoğunluğa bağlı görülmektedir (Oliveira ve diğerleri, 2014). Hipertermi durumlarında kan, vücut ısısını düzenlemek için periferde dağıtılır, gastrointestinal sistem hipoperfüzyon durumuna gelir ve nihayetinde normal geçirgenlikte değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler sonucu endotoksin ve reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonları artar, hücre zarları ve sıkı bağlantı odakları bozularak bağırsak mukozasında önemli hasarlar oluşur (Hall ve diğerleri, 2001; Lambert, 2009).

2.2.3. Mikrobiyota Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu

Bağırsak kanalı, tüm türlerde geniş ve karmaşık bir mikrobiyal ekosisteme ev sahipliği yapmaktadır. Yerleşik mikroflora, beslenme ihtiyacı olması, epitel gelişimini düzenlemesi ve immün yanıtlarda rol oynaması açısından sıklıkla bir organ sistemi olarak düşünülür (Eckburg ve diğerleri, 2005). Bağırsak mikrobiyotası çok zengin tür çeşitliliğine sahiptir ve bireysel farklılıklar gösterir. Mikrobiyota-konak etkileşimi çoğunlukla sağlığa pozitif yönde etki eder. Fakat çevresel değişiklikler gibi belirli koşullar altında, mikrobiyotada bulunan simbiyotik canlılar patojenik etkiye sahip olabilir. Bu da immün sistem aktivasyonu ve inflamatuvar yanıt ile sonuçlanır (Chow ve diğerleri, 2011; Wells ve diğerleri, 2017). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarına neden olan ajanlar olarak çok çeşitli mikroorganizmalar bildirilmiştir (Fava ve Danese, 2011). Mikrobiyotada yararlı bakterilerin ve metabolik yan ürünlerinin azalması sonucu zararlı mikrobiyal popülasyonda ve toksik metabolitlerinde artış gerçekleşir. Bu koşullarda mikrobiyotanın değişmesine yol açan bir disbiyozun ortaya çıkması muhtemeldir (Fava ve Danese, 2011). Ağırlıklı olarak hayvan modellerine dayanan çalışmalarda, bazı simbiyotik mikroorganizmaların (örn. *Helicobacter* ve segmentli filamentli bakteriler),

genetik olarak duyarlı bir konakçıya kolonize edildiğinde bağırsak iltihabı ve patolojisi başlattığı gösterilmiştir. Diğer durumlarda, yerleşik mikrobiyota antibiyotik kullanımı sonucu değişebilir ve hastalıklara yatkınlık şekillenebilir (Chow ve diğerleri, 2011).

2.3. Köpeklerde Gastrointestinal Biyobelirteçler

Son on yılda çeşitli gastrointestinal hastalığı olan köpeklerde fonksiyonel, biyokimyasal, mikrobiyomik, metabolomik, genetik ve hücrel biyobelirteçler üzerindeki çalışmalar hız kazanmıştır (Heilmann ve Steiner, 2018). Bir biyobelirtecin klinik olarak yararlı olabilmesi için, organları fonksiyonel olarak değerlendirmesi, hastalık gelişim riskini ve süresini tespit etmesi, hastalığın şiddetini ve aktivitesini belirlemesi veya hastanın tedaviye yanıtını tahmin etmesi gibi birçok faktör bulunur (Heilmann, 2015; Parikh ve Vasan, 2007). Tek bir biyobelirtecin tüm bu şartları sağlama ihtimali çok düşük olacağından, hangi klinik bilginin istendiği ve mevcut klinik algoritmalar içinde hangi biyobelirteçlerin bize en doğru yolu göstereceğini değerlendirmek çok önemlidir (Duvoisin ve diğerleri, 2017; Parikh ve Vasan, 2007; Vermeire ve diğerleri, 2006).

Yapılan klinik çalışmalarda, protein yapısında olan zonulinin bağırsak geçirgenliğinin bir biyobelirteci olarak gösterildiği rapor edilmiştir (Fasano, 2012). Zonulin sinyal yolunun düzensizliği, normal bağırsak bariyer fonksiyonunun bozulmasına ve bağışıklık tepkilerinin değişimine yol açmaktadır. Zaman içinde dolaşımda hızla artan zonulin ile birlikte otoimmün, neoplastik ve inflamatuvar hastalıklara zemin hazırlanmaktadır. Zonulin düzeyinin artması ile bağırsak geçirgenliğinin artması arasında pozitif bir ilişki bulunduğundan dolayı bu biyobelirtecin bağırsak bariyer fonksiyonunun eski haline getirilmesinde terapötik amaç için kullanılabileceği de rapor edilmiştir (Fasano, 2012).

Laktat, anaerobik glikoliz sisteminin son ürünü olarak vücudun hemen hemen her yerinde bulunur (Lange ve Jäckel, 1994). Gastrointestinal sistem anormallikleri olan köpeklerde laktat düzeyi, klinik olarak sağlıklı olan köpeklere göre önemli ölçüde yüksek çıkmaktadır (Micheal ve diğerleri., 1998). D-laktat bakteriyel fermantasyonun bir yan ürünüdür ve memeli hücrelerinde çok az sentezlenir. Bakteriyel aşırı üreme ve artmış bağırsak geçirgenliği sonucunda dolaşımda D-laktat seviyesinin yükselmesinden dolayı gastrointestinal fonksiyon bozukluklarında laktatın önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Peoc'h ve diğerleri, 2018).

2.3.1. Zonulin

İnsanlarda *Vibrio Cholera* için araştırma yapılırken bağırsak sıkı bağlantı noktalarında kilit rol oynayan zonulinin keşfi, karmaşık bir yapıya sahip olan bağırsak geçirgenliği ve parasellüler yolu düzenleyen mekanizmaları daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Zonulin, Tight Junction'ı hızlı ve tekrarlanabilir yapıda olması için modulator görevi görmektedir. Makro moleküllerin ve immun sistem hücrelerinin lümen içerisinden dolaşıma geçişini düzenleyen zonulin, bağırsağın patojen mikroorganizma kolonizasyonuna karşı korunmasından sorumludur (Fasano, 2011).

Bakteriler ve gliadin, günümüzde zonulinin dolaşıma ve bağırsak lümenine salınımına neden olan iki temel faktör olarak tanımlanmıştır. Çoğu enterik patojen, salgıladığı enterotoksinler sayesinde konakçının sıkı bağlantı noktalarında istenmeyen etkilere sebep olmaktadır. Bazı patojenlerin apikal yüzeye teması intestinal geçirgenliği arttırarak zonulin salınımını tetiklemektedir. *Salmonella typhi* ve *E. coli* gibi patojenler bu duruma örnektir (Fasano, 2012; Sturgeon ve Fasano, 2016). Normalde bağırsak lümeninden dolaşıma geçemeyecek olan bakteriyel lipopolisakkaritler ve besin maddeleri de intestinal geçirgenliğin artması ile dolaşıma geçerek inflamasyona neden olmaktadır (Suzuki, 2013). Bu faktörlerin yanında bağırsak mikrobiyotasındaki değişimler de intestinal geçirgenlik üzerinde oldukça etkili rol oynamaktadır (Moreira ve diğerleri, 2012; Rodríguez ve diğerleri, 2015).

2.3.1.1. Artmış Bağırsak Geçirgenliği ve Zonulin

Bağırsakların alınan besinlerin absorpsiyon ve dijesyonu ile vücuttaki su ve elektrolit dengesini sağlamasının yanında vücuda girebilecek patojenlere karşı mukozal bariyer aracılığı ile önemli rol oynadığı yapılan çalışmalar ile rapor edilmiştir (Fasano, 2012).

Bağırsak mukozal bariyerini geçmek ve dolaşıma girmek için iki yol vardır. Birincisi “*transsellüler*” yoldur. Enterositlerde bulunan fırçamsı kenarlar üzerinde transporter (taşıyıcılar) aracılığı ile gerçekleşir ve birçok besin maddesi bu yolla vücuda alınır. İkincisi ise “*parasellüler*” yoldur. Bu yol hücreler arası boşluklardan gerçekleşir ve suda çözünen moleküller, iyonlar ve bazı mikroorganizmalar bu yol sayesinde dolaşıma katılır (Fasano, 2008, 2011). Tight junctions (sıkı kavşaklar), bağırsaklarda parasellüler geçişin kontrolünü sağlayan yapılardır. Bu yapılar diyet şekli, fiziksel performans, yangısal mediyatörler ve sinirsel ve hormonal iletiler ile koordineli biçimde çalışır (Arrieta, 2006; Lamprecht ve Frauwallner, 2012). Bağırsak sıkı kavşaklarının (tight junctions) bir diğer görevi ise alınan

besinlerin digesyonu ve taşınmasının yanı sıra vücuda girebilecek patojenlere karşı immun yanıt ve tolerans arası dengenin oluşmasında görev almaktadır. Tight junction'ların yapısı ile ilgili günümüzde birçok bilgi mevcut olmasına rağmen, fizyolojisi ve patofizyolojisi hakkındaki çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu sıkı kavşaklarda kilit rol oynayan Zonulin, mukozadan köken alan ve bağırsak geçirgenliğini direkt olarak kontrol eden reverzibl bir proteindir (Fasano, 2008; 2012; Wang, 2000). Bağırsak içerisinde bulunan patojen mikroorganizmalar ve gluten gibi tetikleyici maddelere yanıt olarak Zonulin lümene ve dolaşıma salınır. Lümene salınan zonulin, epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde bulunan reseptörlere bağlanarak tight junction'ların bütünlüğünün bozulmasına neden olan basamakları başlatır (El Asmar, 2002; Tripathi, 2009).

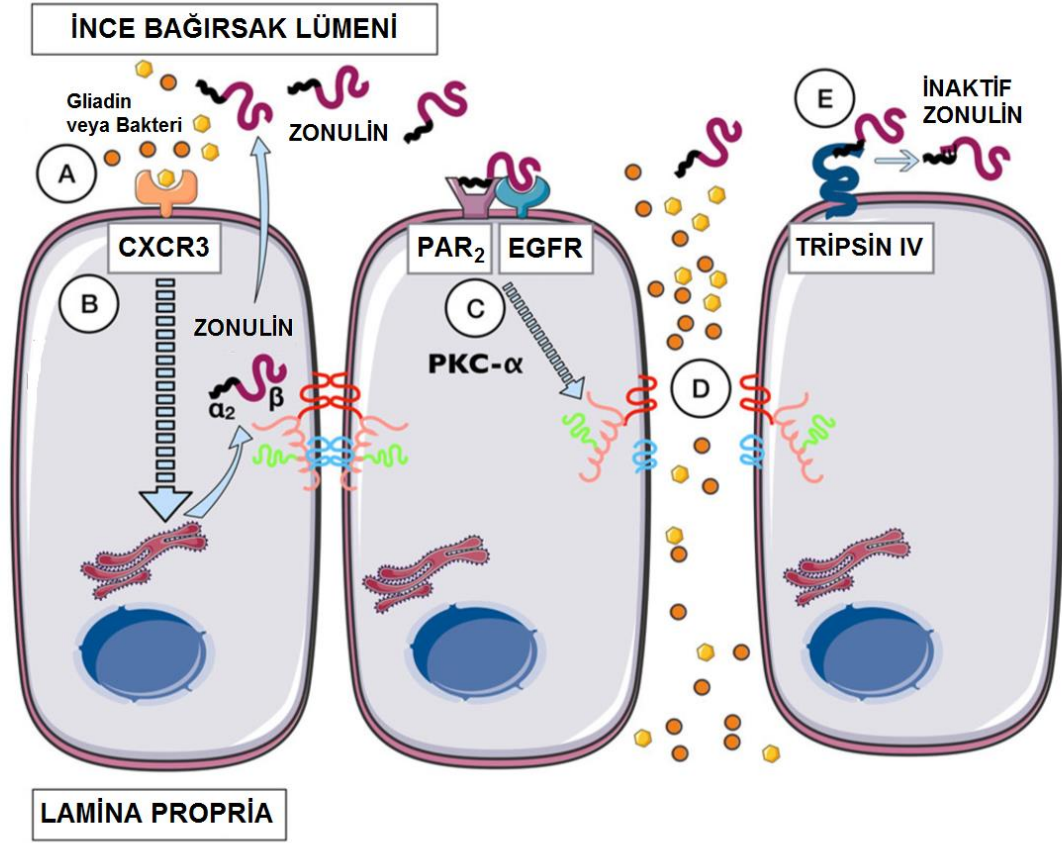
Bağırsaklar, vücuda girebilecek zararlı maddelere karşı sıkı bir bariyer görevi görür. Eğer bu sıkı bariyer bozulur ve geçirgenlik artarsa, çok sayıda zararlı madde dolaşım sistemine geçer. Patojenlere ve çevresel tetikleyicilere uzun süre maruz kalmak Zonulin salınımını artırır. Bu da bağırsak geçirgenliğinin artmasına ve patojen mikroorganizmaların submukozaya geçişine neden olur. Bu sistem öncelikle bağırsak mukozasının enfekte olmasıyla ve enfekte olan mukozanın hasar görmesiyle başlar. Hasar gören mukozada geçirgenlik artar ve immun sistemin yoğun reaksiyonu başlar. Bütün bu olaylar sonucu zararsız gıda maddeleri dolaşıma geçerek immünolojik reaksiyonlar, gıda alerjileri veya gıda intoleransları gelişir. Sızıntılı bağırsak adı da verilen bu durumun uzun süre devam etmesi, vücudun kendi organ ve dokularına karşı otoantikor üretmesine ve otoimmun hastalıkların gelişmesine neden olmaktadır. Tip 1 diyabetes mellitus, çölyak hastalığı ve otoimmun hastalıkların, sızıntılı bağırsak nedeni ile ilişkilendirebildiği rapor edilmiştir (Fasano, 2012; Fasano ve Shea-Donohue, 2005). Zonulin ile ilişkili olan bazı hastalıklar Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Zonulin ile ilişkili olan bazı hastalıklar (Fasano, 2011).

Otoimmun Hastalıklar	Neoplazik Hastalıklar	Sinir Sistemi hastalıkları
<ul style="list-style-type: none">• Çölyak Hastalığı• Ankilozan Spondilit• Romatoid Artrit• Crohn Hastalığı• Sistemik Lupus Eritematozus	<ul style="list-style-type: none">• Akciğer Kanseri• Meme Kanseri• Pankreas Kanseri• Ovarium Kanseri• Beyin Kanseri	<ul style="list-style-type: none">• Kronik İnflamatuar Demiyelinizan Nöropati• Multiple Skleroz• Şizofreni

Potansiyal olarak zonulin salınımını tetikleyen çeşitli bağırsak lümen uyarıcıları arasında en önemli iki etkenin bakteriler ve gluten olduğu belirlenmiştir (Drago ve diğerleri, 2006; El Asmar, 2002; Fasano, 2011). Enterik enfeksiyonlar, bağırsak bariyerinin bozulmasına ve zonulin salınımına neden olarak alerjik, otoimmün ve inflamatuvar hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumların oluşmasına neden olmaktadır (El Asmar, 2002). Enterik bakterilerin neden olduğu bu zonulin salınımı, hayvan türlerinden veya mikroorganizmaların virülansından bağımsız olarak sadece bakteriye maruz kalan lümen yönüne doğru meydana geldiği ve bunu takiben sıkı bağlantı proteini olarak da bilinen Zonula occludens-1 (ZO-1) proteininin sıkı bağlantı kompleksinden ayrılması ile bağırsak geçirgenliğinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (El Asmar, 2002). Mukozal bariyerin zonulin tarafından yönetilen bu parasellüler yolu, konağı ince bağırsağın aşırı bakteriyel kolonizasyonuna karşı koruyan bağışıklık tepkisinin bir parçası olduğu düşünülmüştür (Fasano, 2012). Glutenin protein yapısında bir bileşeni olan gliadin, zonulin salınımı ile birlikte bağırsak geçirgenliğini arttıran bir diğer önemli uyarandır (Clemente ve diğerleri, 2003; Thomas ve diğerleri, 2006). Gliadinin hem hücre kültürü modellerinde hem de bağırsak dokusunun *ex vivo* çalışmalarında zonulin salınımına ve ardından bağırsak geçirgenliğinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (Clemente ve diğerleri, 2004; Lammers ve diğerleri, 2008).

Gliadin ve bakteri kaynaklı bağırsak epitel hücrelerinden zonulin salınımı mekanizması benzer prensipleri izler. Gliadin veya bakteri, CXCR3 kemokin reseptörüne bağlanarak zonulin salınımına neden olur. Zonulinin ince bağırsağın lümenine salınmasını takiben proteazla aktive edilmiş reseptör 2 (PAR₂) aracılığı ile epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) transaktive edilir. Aktive olan EGFR, protein kinaz C alfa (PKC- α) enzimini uyararak, bu enzime bağımlı hücreler arası sıkı bağlantı noktalarının açılmasına ve bağırsak geçirgenliğinde artışa neden olur. Artmış bağırsak geçirgenliği sonucu bağırsak lümeninde bulunan antijenler, bağışıklık sistemi ile etkileşime girebilecekleri lamina propriaya geçerler. Açığa çıkan zonulinin inaktivasyonu Tripsin IV tarafından proteolitik bozunma ile gerçekleştirilir (Şekil 3) (Wood-Heckman ve diğerleri, 2020).



Şekil 3. Gliadin ve bakteri kaynaklı zonulin salınımının mekanizması ve ardından bağırsak geçirgenliğinde artış (Wood Heckman ve diğerleri, 2020).

2.3.1.2. Spesifik Hastalıklarda Zonulinin Rolü

2.3.1.2.1. Çölyak hastalığı

Çölyak hastalığı, çeşitli şiddetlerde ve geniş bir yelpazede ortaya çıkan, otoimmün karakterli kronik bir enteropatidir. Genetik olarak duyarlı bireylerde buğday glutenininin gliadin fraksiyonunun ve diğer tahıl ürünlerinin alkolde çözünen protein kısımlarının yenmesi ile tetiklenir, immün yanıt gelişir ve ince bağırsak iltihaplanması şekillenir. Ancak bu durum glutensiz beslenme ile tersine dönerek villöz yapının normaleştiği görülür (Branski ve diğerleri, 2006). Çölyak hastalığı diğer otoimmün hastalıkların aksine *İnsan Lökosit Antijeni* ile yakın bir genetik ilişki içerisindedir. İnsan lökosit antijeni (HLA) doku transglütaminaz oto-antijenine karşı oldukça spesifik bir humoral oto-immün yanıt oluşturur. Bu yanıtı sebep olan en önemli çevresel faktör gliadindir. Hastalığa bağlı bağırsak hasarına yol açan faktör,

genler (Hem HLA bağımlı hem de bu antijene bağlı olmayan) ve çevre (glüten) arasındaki etkileşimdir (Plenge, 2010). Fizyolojik koşullar altında bu etkileşim tight junction'lar tarafından engellenir. Fakat çölyak hastalığının erken aşamasında tight junction'lar açılır ve şiddetli bağırsak hasarı meydana gelir (Madara ve Trier, 1980; Schumann ve diğerleri, 2012; Wolters ve diğerleri, 2010).

Nüfuz eden gliadin peptidlerinin etkisi, zonulin ekspresyonu için araştırılan aktif çölyak hastalığı olan ve olmayan hastalardan alınan bağırsak örnekleri ile doğrulanmıştır. Yapılan araştırmada, aktif çölyak hastalarından alınan örneklerin kantitatif immunoblot yöntemi ile analizi sonucunda, kontrol hastalarına kıyasla zonulin proteininde artış olduğu görülmüştür (Drago ve diğerleri, 2006).

2.3.1.2.2. Tip 1 diyabetes mellitus

Kafkasya bölgesinde yaşayan insanlarda bulunan bazı HLA sınıf II allel genler tip 1 diyabete %40 genetik yatkınlık gösterir (Brorsson, 2010). Ancak, bu HLA allel genlerine sahip çoğu insanda tip 1 diyabet gelişmez. Bu da bazı çevresel ürünlere karşı oluşan reaksiyonun beta hücrelerinin otoimmün yıkımını tetiklediği ve tip 1 diyabete yol açtığı görüşünü desteklemektedir. Tip 1 diyabette görülen gastrointestinal semptomlar genellikle otonom nöropatiye bağlı sekonder gelişen bağırsak hareket bozukluklarına atfedilmiştir (Feldman ve Schiller, 1983). Yapılan çalışmalar, tip 1 diyabetteki bağırsak geçirgenliğinin semptomların başlangıcından önce meydana geldiğini göstermiştir (De Magistris ve diğerleri, 1996). Bu, tight junction'a bağlı bağırsak geçirgenliğinin tip 1 diyabetin başlamasından sorumlu olduğu fikrine yol açmıştır (De Magistris ve diğerleri, 1996; Mooradian ve diğerleri, 1986). Bu hipotez, tip 1 diyabetik yatkınlığı olan sıçanların, diyabetin başlangıcından en az 1 ay önce bağırsak geçirgenliğinin arttığını gösteren çalışmalarla desteklenmektedir. Sıçanların pankreas beta adacıklarının histolojik hasarı geçirgenliğin arttığı sırada görülmedi, ancak sonrasında hasar açıkça görülmüştür (Meddings ve diğerleri, 1999). Yapılan bu çalışmalar, kullanılan hayvan modelinde tip 1 diyabetin histolojik veya gözle görülür belirtilerinden önce bağırsak geçirgenliğinin arttığına dair kanıt sağlamıştır. Aynı sıçan modeliyle yapılan başka bir çalışmada bağırsak geçirgenliğinin zonuline bağlı artışının, tip 1 diyabetin başlangıcından 2-3 hafta önce başladığı bildirilmiştir (Watts ve diğerleri, 2005).

2.3.1.2.3. Yangısal bağırsak hastalığı

Artan bağırsak geçirgenliğinin Crohn hastalığının patogeneğinde çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Buhner ve diğeri, 2006; Wyatt ve diğeri, 1993). Yapılan bir çalışmada, ince bağırsak geçirgenliğindeki artışlar ile kolit gelişimi arasındaki doğrudan ilişkiyi göstermek için deneysel olarak kolit geliştirilen farelerde zonulin inhibitörü *AT-1001* ile tedavi uygulandı. Çalışma sonucunda kolitli farelerde önemli bir iyileşme gözlemlendi (Arrieta ve diğeri, 2009).

2.3.1.2.4. Multiple skleroz

Multiple skleroz hastalarında, kan-beyin bariyerinin bozulmasının yanında artmış bağırsak geçirgenliği de bildirilmiştir. Bu hastalığın semptomlarını aktif olarak gösteren hastalarda serum zonulin seviyelerinde artış gözlenirken, remisyonda olan ve tekrarlayan multiple skleroz hastalarında da serum zonulin seviyelerinde artış olduğu rapor edilmiştir (Fasano, 2011).

2.3.1.2.5. Obezite

Son yıllarda obezitenin kronik inflamasyon ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Olszanecka-Glinianowicz ve diğeri, 2011; Zahorska-Markiewicz ve diğeri, 2000). Obeziteli farelerin kullanıldığı bir çalışmada, artan bağırsak geçirgenliği ve makromoleküllerin emilimindeki bozukluklar gösterildi (Ferraris, 1995). Yapılan bu çalışmalar, obezitenin bağırsak bariyerini bozduğu ve serum zonulin seviyesini arttırdığını göstermiştir (Moreno-Navarrete ve diğeri, 2012; Zhang ve diğeri, 2014).

2.3.1.2.6. Akut akciğer hasarı

Gastrointestinal sisteme benzer olarak solunum sistemi de sıkı bağlantılara sahiptir ve bu bağlantılar çeşitli hastalıklara karşı mukozal bariyer görevi görür (Sturgeon ve Fasano, 2016). Zonulin, akut akciğer hasarında sıkı bağlantıların açılmasında rol oynar ve plazma içeriğinin akciğerlere sızmasına neden olur. Yapılan çalışmalarda *AT-1001* veya zonulin nötralize edici antikorların akut akciğer hasarının şiddetini azalttığı bildirilmiştir (Rittirsch ve diğeri, 2013; Ware ve Matthey, 2000).

2.3.1.2.7. Astım

Akciğer geçirgenliğindeki artışlara ek olarak bağırsak geçirgenliği astım gibi bazı akciğer hastalıklarında rol oynar (Benard ve diğerleri, 1996; Hijazi ve diğerleri, 2004). Yapılan çalışmalar, astımlı hastaların serum zonulin düzeylerinin arttığını ve aynı hastaların yaklaşık %40'ında bağırsak geçirgenliğinde de artış olduğunu göstermiştir (Fasano, 2011).

2.3.1.2.8. Nörolojik hastalıklar

Kan-beyin bariyeri endotel hücreleri tarafından oluşturulur ve dolaşımdaki kanı beyinden ayırır. Zonulin, endotelyal sıkı bağlantıları kontrol edebildiğinden nörolojik hastalıkların patogeneğinde rol alabileceği düşünülmüştür (Sturgeon ve Fasano, 2016).

Zonulinin beyin tümörleri, özellikle gliomalar ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Díaz-Coránguez ve diğerleri, 2013; Skardelly ve diğerleri, 2009). Glioma hücre hattı üzerinde yapılan in vitro çalışmada, zonulinin glioma olmayan kontrol grubu hücrelere kıyasla yüksek miktarlarda eksprese edildiği gösterilmiştir (Díaz-Coránguez ve diğerleri, 2013). Ek olarak zonulinin, nöronal progenitör hücrelerin kan-beyin bariyeri boyunca ilerlemesini indüklediği de gösterilmiştir (Díaz-Coránguez ve diğerleri, 2013).

2.3.1.2.9. Septisemi

Septiseminin patogeneğinde ve ilerlemesinde bağırsak bariyer disfonksiyonunun oldukça önemli bir yeri vardır (Sturgeon ve Fasano, 2016). Deneysel bir sepsis çalışmasında sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunun değiştiği ve serum zonulin düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (Yoseph ve diğerleri, 2016). Operasyon sonrası septisemi yaygın bir komplikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan bir çalışmada, probiyotik uygulamalarının operasyon sonrası septisemiye tedavi ettiği ve bununla birlikte serum zonulin seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2015). Bu veriler, enterositlerden zonulin salınımının artmasının bakterilerin epitel doku boyunca septisemiye yol açabilecek göçüne neden olduğunu göstermektedir (Sturgeon ve Fasano, 2016).

2.3.2. Laktat

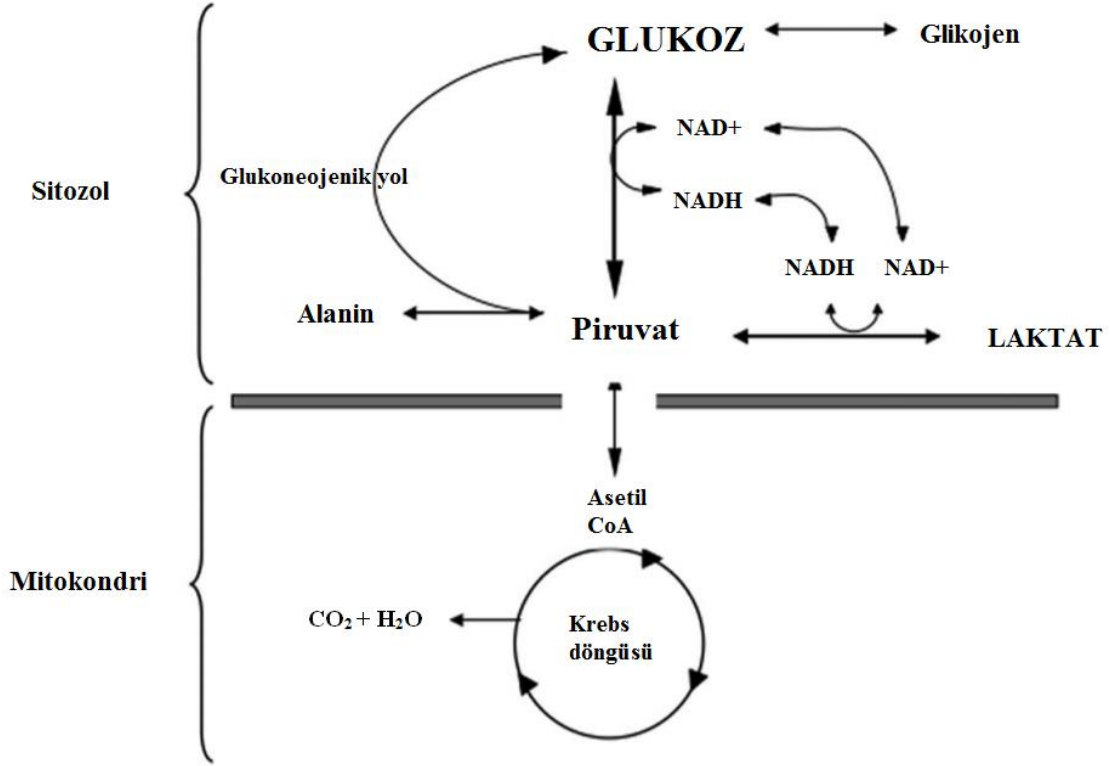
Laktat, anaerobik glikoliz sisteminin son ürünü olarak vücudun neredeyse her yerinde bulunur (Lange ve Jäckel, 1994). İskelet kası, beyin, eritrositler ve renal medulla normal laktat üretiminin çoğundan sorumludur (Fall ve Szerlip, 2005). En yaygın olarak, şok, şiddetli anemi, solunum sistemi bozuklukları ve gastrointestinal sistem anormallikleri gibi durumlarda hipoperfüzyonun ve hipoksinin bir sonucu olarak üretilir. Aynı zamanda çeşitli ilaçların, toksinlerin, mitokondriyal kusurların ve sepsis gibi hastalık durumlarının bir sonucu olarak da kandaki laktat düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (Kruse ve Carlson, 1987; Luft, 2001).

2.3.2.1. Laktat Metabolizması

Glikoliz, glukoz metabolizmasının ilk adımıdır. Hücrelerin sitoplazmasında gerçekleşen ve piruvat üretimi ile sonuçlanan anaerobik bir süreçtir. Glukozun piruvata metabolizması, koenzim nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD^+) NADH 'ye indirgenmesine ve hücresel süreçlerde gerekli ana enerji kaynağı olan 2 mol adenozin trifosfat (ATP) üretimine neden olur. Aerobik koşullar altında piruvat hücrelerin mitokondrilerinde Krebs döngüsüne girer. Oksidatif fosforilasyon yolu ile ek 36 mol ATP üretilir ve NADH 'nin NAD^+ 'e oksitlenmesi gerçekleşir. Kırmızı kan hücreleri gibi mitokondri içermeyen hücrelerde piruvat, laktat dehidrojenaz (LDH) enzimi tarafından laktata katalize edilir. (Allen ve Holm, 2008).

Metabolik olarak üretilen piruvatın çoğu glikoliz yolu ile glukozdan sağlanır. Açığa çıkan piruvat farklı metabolik olaylarda kullanılabilir (Şekil 4)(Pang ve Boysen, 2007):

- Krebs döngüsü ile enerji üretimi,
- Glukojenik yollarla (Cori döngüsü) glukoz dönüşümü,
- Oksitlenmiş nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD^+) geri dönüşümü ile laktat üretimi.



Şekil 4. Piruvatın kullanıldığı metabolik olaylar (Pang ve Boysen, 2007).

Hipoksi durumlarında dokular, enerji üretimi için glikoliz kullanmaya zorlanır. Glikoliz, aerobik metabolizmaya göre daha az verimli bir yoldur ancak çok daha hızlı gerçekleşir. ATP'nin sürekli kullanımından ve NAD⁺'in NADH'ye indirgenmesinden dolayı bol miktarda hidrojen iyonu açığa çıkar. Bu hidrojen iyonları normalde aerobik oksidatif fosforilasyon mekanizması tarafından tüketilir, ancak anaerobik metabolizma sırasında fazla miktarda birikebilir. Piruvat, NADH ve hidrojen iyonlarının konsantrasyonu arttıkça, glikolitik süreç bu son ürünlerin birikmesi nedeniyle yavaşlamaya başlar. Piruvat ve NADH konsantrasyonlarındaki artış, bu ürünlerin reaksiyona girmesine ve LDH tarafından laktata dönüştürülmesine neden olur. Bu reaksiyon sitozolik enerji üretimi ve glikolizin devam etmesine izin verir. Piruvat hipoksik hücrelerde laktata dönüştüğünden laktatın piruvata oranı artar. Hücre içi laktat seviyesi yükselir ve yükselen konsantrasyonu sonucunda laktat, hücre zarından monokarboksilat-proton transport sisteminin yanı sıra serbest difüzyon ile kana geçer (Poole ve Halestrap, 1993). Eğer anaerobik koşullar yaygınlaşırsa diğer dokular laktatı piruvata veya glukozla dönüştüremez ve anyonik bir baz çözeltisi içerisinde dengede tutulur. Fizyolojik pH değerinde serbest hidrojen iyonları laktat üretimine katılma eğilimindedir. Hidrojen iyonları başlangıçta vücut tamponları tarafından titre edilir. Ancak tamponlar

tükendiğinde laktat birikimi ile birlikte laktik asidoz meydana gelir (Kruse ve Carlson, 1987). Aerobik koşulların sağlanması üzerine laktat ve hidrojen iyonları glukozu metabolize edilir veya oksitlenerek su ve karbondioksit olarak vücuttan atılır (Allen ve Holm, 2008).

2.3.2.2. L- ve D-Laktat

Laktat, D- ve L- olmak üzere memeli vücudunda iki izoformda bulunur. Anaerobik glikoliz sırasında piruvattan esas olarak L-laktat üretilir. Yetişkin sağlıklı köpeklerde plazma laktat konsantrasyonu 0.3-3.6 mmol/L aralığındadır ve bunun %98'ini L-laktat oluşturur. Bunun yanında L-laktat dehidrojenaz da L-laktat gibi, D-laktat dehidrojenazdan daha fazladır ve iskelet kası dahil birçok doku tipinde yaygındır (Blake, 2017; Flick ve Konieczny, 2002). L-laktik asidoz, insanlarda ve hayvanlarda D-laktik asidozdan daha yaygın gözlenir ve bu nedenle klinik ortamda D-laktattan daha sık ölçümü yapılır (Ewaschuk ve diğerleri, 2005; Sharkey ve Wellman, 2015).

L-laktik asidozun aksine D-laktik asidoz, genellikle gıda alımıyla bağlantılı olarak kötüleşen ensefalopati epizodları ile karakterizedir. D-laktik asidoz vakalarında fazla laktat, bağırsak lümeninde D-laktat'ın bakteriyel üretiminden kaynaklanır (Ewaschuk ve diğerleri, 2005; Uribarri ve diğerleri, 1998). D-laktatın birincil eksojen kaynağı, kolonda artan karbonhidrat yükü sebebi ile bakteriyel aşırı çoğalma ve bu bakterilerin fermentasyonudur. Sindirilebilir karbonhidratlar esas olarak ince bağırsakta emilir. Emilemeyen ve kolona ulaşan karbonhidratlar, bağırsak bakterileri tarafından anaerobik fermentasyona uğrarlar. Türe bağlı olarak bağırsak bakterileri, D- veya L-laktata özgü dehidrojenaz ve laktat rasemaz enzimi taşıyabilirler. Bu bilgiler ışığında, D-laktatın, karbonhidratların kolon mikrobiyotası tarafından meydana gelen anaerobik fermentasyonunun bir ürünü olduğu anlaşılmıştır (Halperin ve Kamel, 1996; Hove ve Mortensen, 1995). Gastrointestinal hastalığı bulunan 100 kedi üzerinde yapılan bir çalışmada, D-laktat konsantrasyonları sağlıklı kontrol grubunda bulunanlardan önemli ölçüde yüksek olduğu, ancak L-laktat konsantrasyonlarının iki grup arasında önemli ölçüde farklı olmadığı bildirilmiştir (Packer ve diğerleri, 2012).

2.3.2.3. Gastrointestinal Biyobelirteç Olarak D-laktat

Laktatın ikinci stereoizomeri olan D-laktat, bakteriyel fermentasyonun bir yan ürünüdür ve memeli hücreleri tarafından çok az miktarda üretilir (Ewaschuk ve diğerleri, 2005). İskemik hasarlar, artan bağırsak geçirgenliği ve bakteriyel aşırı çoğalmanın etkisi ile D-laktat

miktarında artış gözlenir. Akut iskemik bağırsak hasarı, D-laktatı portal ve sistemik dolaşıma salan yerleşik mikrobiotanın aşırı çoğalması ile ilişkilendirilmiştir (Marti ve diğerleri, 1997). Bunun yanında İnsanlarda kısa bağırsak sendromu (Kowlgı ve Chhabra, 2015), buzağılarda ishal (Lorenz, 2004) ve kedilerde ekzokrin pankreas yetmezliği gibi bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerle ilişkili hastalıklarda D-laktik asidoz bildirilmiştir (Packer ve diğerleri, 2005). Ruminantlarda ve insanlarda D-laktik asidozun patofizyolojisine benzer şekilde, kedilerde artan D-laktat konsantrasyonu ile gastrointestinal sistemdeki yüksek karbonhidrat yükü arasında bir ilişki olduğuna dair kanıtlar vardır. Ekzokrin pankreas yetmezliği ve bağırsakta aşırı bakteriyel üremesi olan bir kedide, D-laktik asit ensefalopatisinin ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Packer ve diğerleri, 2005). Bu ilişki, kedilerin çeşitli yüksek karbonhidratlı diyetlerle beslendiği deneysel bir çalışma ile de desteklenmektedir. Yüksek karbonhidratlı diyetlerle beslenen kedilerin dışkılarından ölçülen D-laktat konsantrasyonları, düşük karbonhidrat ile beslenen kontrol grubuna göre 3-8 kat daha yüksek bulunmuştur (Kienzle, 1994).

2.3.2.4. Acil Hastalarda Plazma Laktat Konsantrasyonu

Plazma laktat konsantrasyonu hem insan hem de veteriner hekimliğinde değerli bir triyaj parametresi ve prognostik gösterge olarak kabul edilmektedir (Rosenstein ve diğerleri, 2018). Fizyolojik olarak laktat, glikolizin bir yan ürünüdür ve normal koşullarda piruvatın yaklaşık %10'u laktat dehidrojenaz (LDH) tarafından laktata dönüştürülür (Pang ve Boysen, 2007). Piruvat, hipoksemik koşullarda sitozol içinde birikme eğilimi gösterir ve fazla piruvatın laktata dönüşebilmesi için LDH enziminin yukarı regülasyonunu tetikler. Hipoksemik koşullar ortadan kalktığında laktat, kolayca piruvata dönüştürülebilen bir enerji deposu olarak görev alır (Kamel ve diğerleri, 2020).

Hiperlaktatemi, laktatın serum, plazma veya tam kan içerisinde türe özgü referans aralığının üzerinde bir değerde olması olarak tanımlanır. Bu değer köpeklerde 2,5 mmol/l, kedilerde ise 2 mmol/l'den fazla ise hiperlaktatemi olarak değerlendirilir (Hughes ve diğerleri, 1999; McMichael ve diğerleri, 2005; Rand ve diğerleri, 2002). Hiperlaktatemi tip A ve tip B olarak sınıflandırılmıştır. A tipi hiperlaktatemi oksijen yetersizliğine bağlı oluşur. B tipi ise yeterli oksijen olmasına rağmen farklı nedenlere bağlı oluşabilmektedir. Tip B hiperlaktatemi ayrıca B1 (altta yatan hastalıkla ilişkili), B2 (ilaçlar ve toksinlerle ilişkili) ve B3 (doğusal metabolik anormalliklerden kaynaklanan) olarak alt sınıflara ayrılmıştır (Tablo 5) (Rosenstein ve diğerleri, 2018).

Tablo 5. Hiperlaktateminin sınıflandırılması ve yaygın nedenleri (Rosenstein ve diğerleri, 2018).

Tip A		Tip B		
		B1	B2	B3
- Hipoperfüzyon - Anemi - Hipoksi	- Yoğun egzersiz - Nöbetler - Titremeler - Kasılmalar	- Neoplazi - Hipertiroid - SIRS/Sepsis - Gizli şok - Karaciğer yetmezliği - Diabetes mellitus - Tiamin eksikliği	- Glukokortikoidler - Epinefrin - Parasetamol - β -agonistler - Etilen glikol - Ksilitol - Kokain	- Herediter - Mitokondriyal - Disfonksiyonel

Hipovolemik şoka bağlı gelişen tip A hiperlaktatemiye bir örnek olarak altı yaşındaki Labrador Retriever cinsi köpek depresif görüntü ve durgunluk şikayeti ile kliniğe başvurdu. Yapılan muayenelerde solgun mukozalar görüldü, taşikardi (kalp hızı 168 bpm) ve arteriyel kan basıncı 32 mmHg olarak ölçüldü. Ultrasonografik muayenede serbest karın sıvısı ve büyümüş dalak tespit edilip tanısal abdominosentez ile akut hemoabdomen tanısı konuldu. Son olarak alınan venöz kan örneğinde plazma laktat konsantrasyonu 8,4 mmol/l olarak ölçüldü. Hastaya kristalloid bolusları ile başarılı bir hacim resüsitasyonu yapıldı. Ardından 90 bpm kalp hızı, 95 mmHg ortalama kan basıncı ve tekrarlayan venöz kan gazı analizinde 1,6 mmol/l plazma laktat konsantrasyonu ölçüldü (Brunori, 2020).

Tip B hiperlaktatemiye örnek olarak salbutamol içeren soluma cihazını çiğnemesi sonucu kliniğe getirilen bir yaşındaki Tibet Teriyerinin klinik muayenesinde ciddi taşikardi (200 bpm) bildirildi fakat kardiyovasküler olarak stabildi. Venöz kan gazı analizinde orta derecede hipokalemi (2,3 mmol/l) ve şiddetli hiperlaktatemi (8,7 mmol/l) görüldü. Hasta, bir beta blokör ve potasyum takviyesi ile semptomatik olarak tedavi edildi. Taburcu edilmeden önce yapılan tekrarlanan venöz kan gazı analizinde potasyum (4,2 mmol/l) ve laktat (1,67 mmol/l) konsantrasyonlarının normal değerlerde olduğu gözlemlendi (Brunori, 2020).

Hem köpeklerde hem de kedilerde yapılan birkaç çalışmada, yapılan tedaviye rağmen kurtarılamayan hastaların daha yüksek plazma laktat konsantrasyonuna sahip olma eğiliminde oldukları gösterilmiş (Hayes ve diğerleri, 2010, 2011) ve tedaviye rağmen kalıcı hiperlaktateminin mortalite artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Cortellini ve diğerleri, 2015; Stevenson ve diğerleri, 2007; Zacker ve diğerleri, 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmanın hayvan materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Küçük Hayvan Kliniği'ne ishal şikâyeti ile getirilen etiyojik olarak sınıflandırılmayan 30 köpek ile klinik, hematolojik ve biyokimyasal bulgularına göre 15 sağlıklı olmak üzere toplam 45 köpek oluşturmuştur. Bununla birlikte Zonulin, hayvanların bozulmuş bağırsak geçirgenliğinin gösterilmesinde önemli bir biyobelirteç olduğundan, olgular üzerinde en az bir ay öncesine kadar antibiyotik kullanılmamış olmasına dikkat edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada, her bir köpeğin *Vena cephalica antebraçhii*'sinden heparin içeren antikoagülanlı ve antikoagülanlı tüplere tekniğine uygun olarak kan örnekleri alınmıştır. Antikoagülanlı tüplere alınan 5 ml'lik kan örneği santrifüje edilerek ELISA yöntemi ile serum zonulin düzeyleri ölçülmüştür. Heparinli tüplere alınan 2 ml'lik kan örneğinde ise laktat düzeyleri araştırılmıştır.

3.2.2. Laboratuvar Değerlendirme

3.2.2.1. Zonulin Analizi

Antikoagülanlı tüplere alınan kan örnekleri 15 dakika süresince 3000 devir/dk hızda santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Elde edilen serum örnekleri ependorf tüplerine ayrılarak analizler gerçekleştirilinceye kadar -20 °C' de buzdolabında saklandı.

Serum zonulin seviyeleri ELISA prensibine dayalı ticari test kiti (Canine Zonulin ELISA Kit, Cat No. MBS2605074) kullanılarak gerçekleştirildi (Resim 1).



Resim 1. Canine Zonulin ELISA Kiti

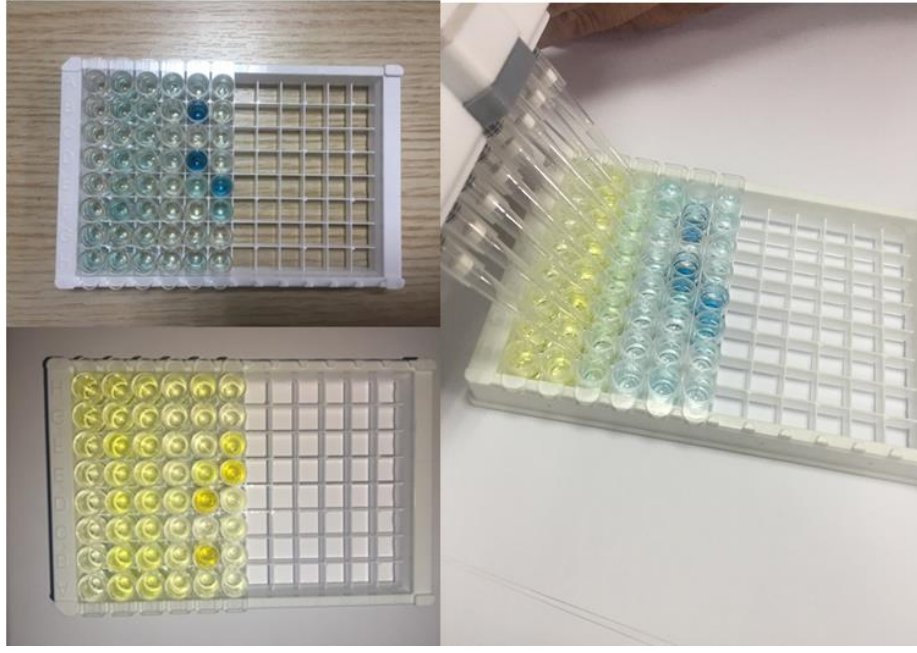
Kullanılan ELISA kiti, çift antikorlu sandviç ELISA prensibine dayanır ve sağlanan bu test köpekler için tipiktir. Canine Zonulin monoklonal antikor ELISA plaka kuyularına önceden bağlanmıştır ve tespit için biotin etiketli poliklonal antikor kullanılır. Örnekler ve biotin etiketli antikor ELISA plaka kuyularına eklendi (Resim 2) ve PBS ile yıkandı (Resim 3). Daha sonra Avidin-peroksidaz konjugatları kuyucuklara eklendi. Oluşan reaktant PBS ile iyice yıkandıktan sonra tetrametilbenzidin (TMB) substrat olarak reaksiyona eklendi. TMB, peroksidaz katalizörlüğünde mavi renge dönüştü ve son olarak asit etkisi ile sarı renk oluştu (Resim 4). Numunelerdeki zonulin konsantrasyonları ile renk yoğunluğu arasında pozitif bir ilişki olduğu bilinmektedir. Test kitinin okunması için EL_x800 model microplate okuyucu kullanıldı (Resim 5).



Resim 2. Örneklerin ELISA kuyucuklarına eklenmesi



Resim 3. PBS ile yıkama



Resim 4. TMB'nin peroksidaz ve asit etkisi ile renk değiştirmesi



Resim 5. ELx800 model microplate okuyucu

3.2.2.2. Laktat Analizi

Plazma laktat seviyelerinin ölçümü el analizatörü (Lactate Pro 2, Arkray, Hollanda) kullanılarak gerçekleştirildi. Bu cihaz 0.3 mikrolitre kan örneği kullanılarak enzimatik-amperometrik yöntem ile kısa süre içerisinde (15 saniye) sonuç veren bir el analizatörüdür.

Analiz için kullanılan striplerin her biri özel koda sahiptir. Stribe kan örneğinin doldurulmasından sonra örnek içerisindeki laktat, laktat oksidaz tarafından oksiklenerek laktat miktarı ile doğru orantılı olacak şekilde elektron açığa çıkarır. Bu elektronlar bir elektroda aktararak oluşan elektrik akımı ölçülür. Ölçülen akım şiddeti, kan örneğinde bulunan laktat miktarını gösterir.

3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma kapsamında değerlendirilen hayvanlardan elde edilen sayısal verilerin tanımlayıcı istatistikleri gerçekleştirildi ve tablolar halinde sunuldu. Verilerin dağılımlarının kontrolünde Shapiro-Wilk ve Kolmogorov Simirnov analiz yöntemleri kullanıldı ve dağılımların normal olmadığı belirlendi. Tüm veriler Log_n tabanında transformasyon işlemine tabi tutulduktan sonra yapılan kontrollerde dağılımların normal olmadığı tespit edildi. Bu kapsamda non-parametrik analiz yöntemlerinden Mann-Whitney U testi ile karşılaştırmalar yapılarak gruplar arasındaki farklılıklar belirlendi. Laktat ve zonulin seviyelerine ilişkin veriler box plot grafikleri olarak sunuldu. Sağlıklı ve ishalleri köpeklere ait yaş ve cinsiyet bilgilerini kapsayan demografik veriler çapraz tablolama yöntemi ile belirlendi. Tüm analizlerde SPSS (20.0, IBM, Amerika) programından yararlanılarak $p < 0,05$ değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Araştırma kapsamında değerlendirilen ishallerli köpeklerin cinsiyet dağılımları incelendiğinde 14 (% 46,6) köpeğin erkek 16 'sının (%53,4) ise dişi olduğu belirlendi. Yine ishallerli köpeklerin yaş dağılımları incelendiğinde 18 (%60) köpeğin 1 yaşından küçük, 12 (%40) köpeğin ise 1 ile 5 yaş arasında bulunduğu tespit edildi. Sağlıklı köpeklerin ise cinsiyet dağılımlarında bir örnekliliğin sağlandığı ve 7 köpeğin erkek 8 köpeğin ise dişi hayvanlardan oluştuğu belirlendi. Sağlıklı köpeklerin yaş dağılımlarında ise 5 köpeğin 1 yaşının altında, 9 köpeğin 1 ile 5 yaş arasında olduğu 1 köpeğin ise 5 yaşından büyük olduğu tespit edildi. Sağlıklı ve ishallerli köpeklerin yaş ve cinsiyet dağılımlarının karşılaştırmasında istatistiksel bir farklılık belirlenmedi.

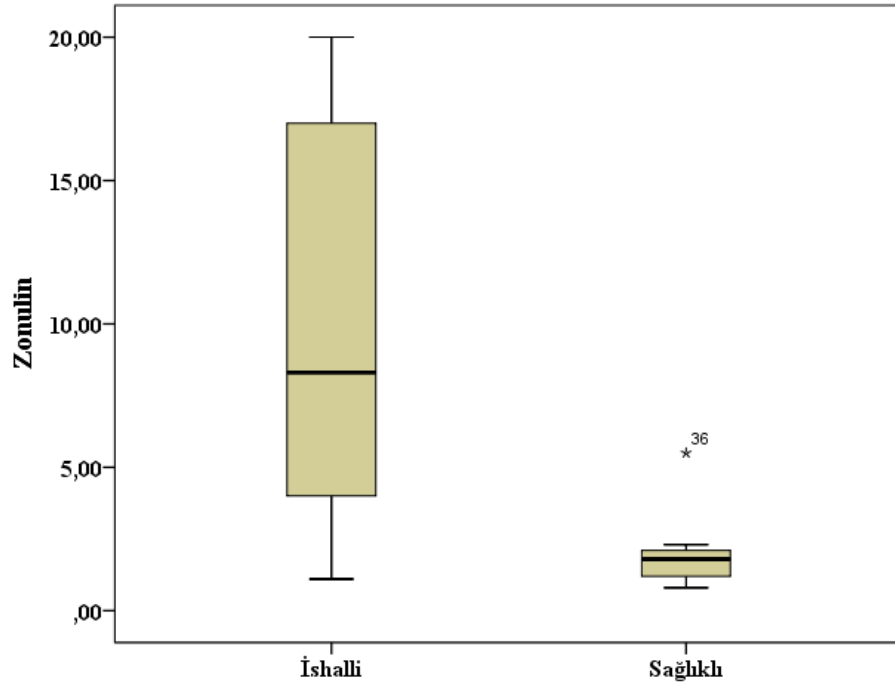
4.2. Laktat ve Zonulin Seviyeleri

İshallerli ve sağlıklı köpeklerin laktat seviyeleri incelendiğinde gruplar arasında belirgin istatistiksel anlamlı farklılığın ($p < 0,000$) bulunduğu tespit edildi. İshallerli köpeklerin plazma laktat seviyelerinin $9,02 \pm 4,7$ mmol/L seviyesinde olduğu buna karşın sağlıklı köpeklerin laktat konsantrasyonlarının $1,21 \pm 1,4$ mmol/L düzeyinde bulunduğu tespit edildi.

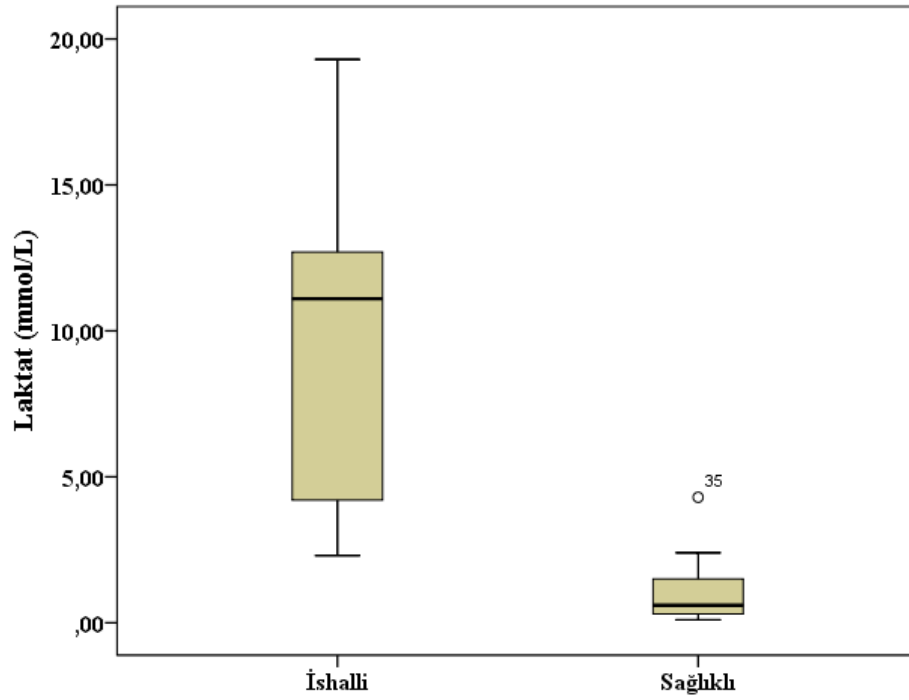
Serum zonulin konsantrasyonlarının ishallerli köpeklerde $9,80 \pm 6,7$ ng/ml seviyesinde bulunmasına karşın sağlıklı köpeklerde serum zonulin konsantrasyonlarının $1,94 \pm 1,4$ ng/ml düzeyinde olduğu tespit edildi. Serum zonulin seviyelerinin ishallerli köpeklerde sağlıklı olan köpeklere kıyasla anlamlı ($p < 0,000$) düzeyde yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 6). Söz konusu farklılıklar box plot grafiklerde de gösterildi (Şekil 5 ve Şekil 6).

Tablo 6. Serum laktat ve serum zonulin seviyelerinin istatistiksel karşılaştırılması.

	Laktat (mmol/L)	Zonulin (ng/ml)
İshallerli	$9,02 \pm 4,7$	$9,80 \pm 6,7$
Sağlıklı	$1,21 \pm 1,4$	$1,94 \pm 1,4$
p değeri	0,000	0,000



Şekil 5. Serum zonulin (ng/ml) seviyelerinin box plot grafiği ile gösterilmesi.



Şekil 6. Serum laktat seviyelerinin box plot grafiği ile gösterilmesi.

5. TARTIŞMA

Hayvan sağlığı ve refahının izlenilmesi ve herhangi bir besinsel müdahalenin hayvan performansı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi için diyet, sindirim ve emilimin, normal ve stabil mikrobiyotası, bağışıklık durumu, bağırsak mukozası ve nöroendokrin-bağırsak motor işlevleri gibi gastrointestinal fonksiyonelliğin tanımlanması çok önemlidir (Celi ve diğerleri, 2017). İshal, farklı etiyolojik nedenlere bağlı infeksiyöz veya noninfeksiyöz oluşabilen, defekasyon sıklığı ile birlikte dışkının sıvı içeriği ve hacmindeki artışlar ile karakterize bir semptomdur. Bu çalışmada, ishalleri köpeklerin etiyolojisine yönelik herhangi bir sınıflandırma yapılmadı. Yeni doğan ve yavru köpeklerde immün sistemin yeterli gelişmemesi ve regülasyon mekanizmasındaki yetersizlikten dolayı ishal daha sık görülmekte ve ciddi sonuçlara yol açmaktadır (Münnich ve diğerleri, 2014; Mila ve diğerleri, 2017). Bu çalışmada, 30 ishalleri köpekten 18'inin 1 yaşın altında olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda, gerek beslenme uzmanları gerekse veteriner hekimler ve bilim insanları arasında "bağırsak sağlığı" kavramının önemli bir konu haline geldiği vurgulanmıştır (Kogut ve Arsenaault, 2016). Hem insan hekimliği hem de veteriner hekimlik alanında yapılan çalışmalarda, bağırsak sağlığının önemi açıkça gösterilmesine rağmen gastrointestinal bariyer fonksiyonu, permeabilite ve bağırsak endokrin sistemi ile ilişkili biyobelirteçlerin belirlenmesinde büyük bir boşluk bulunmaktadır (Celi ve diğerleri, 2017). Bağırsak endotelleri arasında yer alan bağlantı odakları, mukozal bariyer ve hücrelerarası geçirgenliğin düzenlenmesinde kilit rol oynamaktadır. Zonulin bu bağlantı odaklarının geri dönüşümlü geçirgenliğini yöneten bir proteindir. Yapılan klinik çalışmalarda, zonulinin bağırsak geçirgenliğinin bir biyobelirteci olarak gösterildiği rapor edilmiştir (Fasano, 2012; Sturgeon ve Fasano, 2016). Bir diğer belirteç olarak laktik asidin D-enantiomeri, fizyolojik koşullar altında memeli serumunda kayda değer miktarda llemezken gastrointestinal sistemdeki karbonhidratların bakteriyel fermantasyonu gibi ekzojen kaynaklardan veya belirli metabolik hastalıklarda ve zehirlenmelerde ortaya çıkabilen alternatif metabolik sentez olayları ile artmaktadır (Christopher ve diğerleri, 1990). Bakteriyel aşırı üreme ve artmış bağırsak geçirgenliği sonucunda dolaşımda D-laktat seviyesinin yükselmesinden dolayı gastrointestinal fonksiyon bozukluklarında zonulin gibi laktatın da önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Peoc'h ve diğerleri, 2018). Bu çalışmada, çeşitli etiyolojik nedenlere bağlı ishal görülen köpeklerde gastrointestinal fonksiyon bozukluklarını yansıtan

biyobelirteçler arasında yer alan zonulin ve laktat düzeylerinin değerlendirilmesi sonucunda ishalleri köpekler ile kontrol grubu sağlıklı köpekler arasında hem zonulin hem de laktat konsantrasyonu istatistiksel açıdan önemli ($p < 0,000$) düzeyde yüksek bulundu.

Bağırsak, vücuda girebilecek zararlı maddelere karşı sıkı bir bariyer görevi görür. Bu bariyer sisteminin bozulması ve geçirgenliğinin artması sonucu birçok patojen madde dolaşım sistemine geçer. Bağırsak sıkı bağlantı noktasının bütünlüğünün, gliadin ve bakteri gibi tetikleyici maddelere yanıt olarak lümen salınan zonulinin etkisi ile reverzibl olarak bozulması sonucu gastrointestinal sistemin en önemli semptomlarından biri olan ishal şekillenir (Fasano, 2012). İshaller genellikle farklı etiyoloji, klinik görünüm ve patogeneze sahiptir (Schiller ve diğerleri, 2014). Zonulin ise birçok kronik yangısal bağırsak hastalığının patogenezinde önemli bir yer tutmaktadır. Bahsedilen kronik hastalıkların bir çoğu farklı patogenezlere bağlı olarak şekillenmesine rağmen mukozal toleransın bozulması ve hastalıkların oluşması sonucunda zonulin artışının benzer olduğu rapor edilmiştir (Sturgeon ve Fasano, 2016). Uzun süreli zonulin salınımı ve mukozal bariyerin bozulması ile ortaya çıkan sızıntılı bağırsak sonucu zararsız gıda maddelerinin dolaşıma geçmesi ile immünolojik reaksiyonlar, gıda alerjileri veya gıda intoleransları oluşur. Bu durumun devam etmesi vücudun kendi organ ve dokularına karşı otoantikör üretmesine ve otoimmün hastalıkların gelişmesine neden olur (Fasano, 2012; Fasano ve Shea-Donohue, 2005). Bununla birlikte tip 1 diyabetes mellitus ve çölyak hastalığı gibi hastalıkların, sızıntılı bağırsak nedeni ile ilişkilendirebildiği rapor edilmiştir (Fasano, 2012; Fasano ve Shea-Donohue, 2005). Bu bilgiler ışığında yapılan bu çalışmada farklı etiyolojilere sahip ishalleri köpeklerin serum zonulin seviyelerinin yüksek düzeyde anlamlı olması ($9,80 \pm 6,7$ ng/ml), ishalleri birçok farklı hastalığa bağlı olarak da şekillenebileceğini düşündürmektedir.

Yapılan bir çalışmada tip 1 diyabette görülen bağırsak geçirgenliğinin, hastalığın semptomlarından önce geliştiğini göstermiştir (De Magistris ve diğerleri, 1996). Bu çalışma, tight junction'a bağlı bağırsak geçirgenliğinin tip 1 diyabetin başlamasından sorumlu olduğu fikrine yol açmıştır. Diğer bir çalışmada ise, tip 1 diyabete yatkınlığı olan sıçanlarda, diyabetin başlangıcından en az 1 ay önce bağırsak geçirgenliğinin arttığı rapor edilmiştir (Meddings ve diğerleri, 1999). Arrieta ve diğerleri (2009), ince bağırsak geçirgenliğindeki artışlar ile kolit gelişimi arasındaki doğrudan ilişkiyi göstermek için yaptıkları deneysel çalışmada, kolit geliştirilen farelere zonulin inhibitörü AT-1001 ile tedavi uygulanmış ve bu tedavinin takibinde farelerde iyileşmenin oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Astımlı hastalar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, hastaların serum zonulin düzeylerinin arttığını ve aynı hastaların yaklaşık %40'ında bağırsak geçirgenliğinde de artışın oluştuğu belirlenmiştir

(Fasano, 2011). Zonulinin beyin tümörleri, özellikle gliomalar ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Díaz-Coránguez ve diğerleri, 2013; Skardelly ve diğerleri, 2009). Díaz-Coránguez ve diğerleri (2013) tarafından glioma hücre hattı üzerinde yapılan *in vitro* çalışmada, zonulinin glioma olmayan kontrol grubu hücrelere kıyasla yüksek miktarlarda eksprese edildiği gösterilmiştir. Çalışmamız kapsamında değerlendirilen farklı etioloji ve patogeneze sahip ishalleri köpeklerin zonulin seviyelerinin yüksek bulunması, farklı sistem hastalıkları üzerinde yapılan bu çalışmaları destekler niteliktedir.

Bir biyobelirtecini klinik olarak etkili olabilmesi için organların fonksiyonel olarak değerlendirilmesi, hastalığın şiddetinin ve aktivitesinin belirlenmesi ve hastanın tedaviye yanıtı gibi birçok faktörler dikkate alınmalıdır. Tek bir biyobelirtecini tüm bu şartları sağlama ihtimali düşük olduğundan hangi biyobelirteçlerin bize en doğru yolu göstereceğini değerlendirmek oldukça önemlidir (Duvoisin ve diğerleri, 2017; Parikh ve Vasan, 2007; Vermeire ve diğerleri, 2006). Nitekim bu kapsamda gastrointestinal biyobelirteçlerden zonulin ile laktatın incelendiği çalışmada, serum zonulin konsantrasyonu ($9,80 \pm 6,7$ ng/ml) yüksek bulunan ishalleri köpeklerin serum laktat konsantrasyonlarının ($9,02 \pm 4,7$ mmol/L) da istatistiksel olarak yüksek olduğu saptanmıştır.

Laktat, anaerobik glikoliz metabolizmasının son ürünü olarak başta iskelet kası, beyin, eritrositler ve renal medulla olmak üzere memeli vücudunun hemen hemen her yerinde bulunur (Fall ve Szerlip, 2005). Yaygın olarak, şok, şiddetli anemi, solunum sistemi bozuklukları ve gastrointestinal sistem anormallikleri gibi durumlarda hipoperfüzyonun ve hipoksinin bir sonucu olarak meydana gelmesinin yanında çeşitli ilaçların, toksinlerin, mitokondriyal kusurların ve sepsis gibi hastalık durumlarının bir sonucu olarak da kanda laktat düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (Kruse ve Carlson, 1987; Luft, 2001).

Anaerobik koşullar altında dokular enerji üretimi için glikoliz kullanmaya zorlanır. ATP'nin sürekli kullanımından dolayı açığa çıkan H^+ iyonları normalde aerobik oksidatif fosforilasyon mekanizması tarafından tüketilirken anaerobik metabolizma sırasında fazla miktarda birikebilir. Glikolitik sürecin sonunda açığa çıkan piruvat, NADH ve hidrojen iyonlarının birikimi arttıkça, glikolitik metabolizma yavaşlamaya başlar. LDH, biriken piruvat ve NADH ile reaksiyona girerek laktat oluşturur ve bu sürecin devamlılığını sağlar. Hücre içi laktat seviyesinde meydana gelen yükselme sonucunda laktat, hücre zarından monokarboksilat-proton transport sisteminin yanı sıra serbest difüzyon ile kana geçer (Poole ve Halestrap, 1993).

Laktat, D- ve L- olmak üzere memeli vücudunda iki izoformda bulunur. Kandaki laktatın büyük çoğunluğunu L-laktat oluştururken artan bağırsak geçirgenliği, bakteriyel aşırı

çoğalma ve bakteriyel fermantasyon etkisi ile D-laktat miktarında artış gözlenir. Serum laktat miktarının artması hiperlaktatemi olarak adlandırılır (Blake, 2017; Flick ve Konieczny, 2002). Yetişkin sağlıklı köpeklerde plazma laktat konsantrasyonu 0.3-3.6 mmol/L aralığındadır ve çoğunluğunu L-laktat oluşturduğundan klinik olarak D-laktattan daha sık ölçümü yapılır (Blake, 2017; Ewaschuk ve diğerleri, 2005). Çalışmada, ishallerde köpeklerde gastrointestinal sistem bozukluklarının serum total laktat düzeylerini arttırdığı tespit edildi.

Marti ve diğerleri (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, akut iskemik sonucunda bağırsak hasarının şekillenmesi ile D-laktatın portal ve sistemik dolaşıma salınmasının yerleşik mikrobiyotanın aşırı çoğalması ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Bunun yanında insanlarda kısa bağırsak sendromu (Kowłgi ve Chhabra, 2015), buzağılarda ishal (Lorenz, 2004) ve kedilerde ekzokrin pankreas yetmezliği (Packer ve diğerleri, 2005) gibi bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerle ilişkili hastalıklarda da D-laktik asidozun şekillendiği bildirilmiştir. Packer ve diğerleri (2005) tarafından yapılan çalışmada, ruminantlarda ve insanlarda gastrointestinal sistemdeki aşırı karbonhidrat yükü sonucu oluşan D-laktik asidozun patogenezi benzer şekilde kedilerde artan D-laktat konsantrasyonu ile gastrointestinal sistemdeki yüksek karbonhidrat yükü arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada, kedilerin deneysel olarak yüksek karbonhidratlı diyetlerle beslendiği ve gastrointestinal semptomların başlamasıyla beraber laktat seviyesinin 3-8 kat arttığı rapor edilmiştir (Kienzle, 1994). Çalışmada tespit edilen ishallerde köpeklerin laktat düzeylerindeki artış, araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Yapılan araştırmalarda, uygulanan tedaviye rağmen kurtarılamayan hastaların daha yüksek plazma laktat konsantrasyonuna sahip olma eğiliminde oldukları gösterilmiş (Hayes ve diğerleri, 2010, 2011) ve tedaviye rağmen kalıcı hiperlaktateminin mortalite artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Cortellini ve diğerleri, 2015; Stevenson ve diğerleri, 2007; Zacker ve diğerleri, 2010). Bu çalışmada, laktat düzeyi yüksek olan köpeklerde mortalitenin oluşup oluşmadığı takip edilemedi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda yapılan çalışmalar bağırsak sağlığının önemini açıkça göstermesine rağmen gastrointestinal sağlığı belirleyecek biyobelirteçler konusunda halâ büyük bir boşluk bulunmaktadır. Gastrointestinal sistemin fonksiyonelliğini belirleyen birçok faktör bulunduğundan tek bir biyobelirtecin bu şartları sağlama ihtimali oldukça düşüktür.

Yapılan bu çalışmada etiyolojik olarak sınıflandırılmayan ve farklı nedenlere bağlı ishal görülen köpeklerde gastrointestinal fonksiyon bozukluklarını yansıtan biyobelirteçler arasında yer alan zonulin ve laktat düzeyleri değerlendirildi. Çalışma sonucunda hem zonulin hem de laktat konsantrasyonları ishaller için yüksek düzeyde ($p < 0,000$) anlamlı olduğu tespit edildi. İshalin genel olarak bağırsak geçirgenliği ile birlikte şekillendiği ve bağırsak geçirgenliğinin de birçok farklı sistem hastalığının patogeneğinde bulunduğu bilinmektedir. Bu kapsamda zonulin ve laktatın, birçok hastalığın erken tanısı ve tedavisi için etkili birer biyobelirteç olabileceği kanısındayız.

Çalışmada ishallerde saptanan serum zonulin düzeylerindeki artış, intestinal mukoza hasarına yorumlanabilir. Veteriner hekimlikte kullanılan birçok ilaç bağırsak geçirgenliğini olumsuz yönde etkilediğinden, yaptığımız bu çalışmanın rutin tedavi protokollerinde değişimlere sebep olacağını düşünmekteyiz. Laktat düzeylerindeki yükselme mitokondriyal disfonksiyonu işaret etmektedir. Rutin tedavide kullanılan kortikosteroidler başta olmak üzere mitokondriyi zehirleyecek ilaçlardan kaçınılmalıdır. Bu sebeple ishal tedavisinde mitokondriye zarar vermeyecek ve intestinal hasara neden olmayacak ilaçların tercih edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Yapılan bu çalışmada ishallerde gastrointestinal biyobelirteçlerden serum zonulin seviyelerinin ölçümü ELISA metodu ile tespit edildiğinden ve bu metod günümüzde veteriner hekimlik alanında sınırlı kapsamda kullanıldığından, bu durumun zonulin ölçümlerinin rutin klinik uygulamada da sınırlı kapsamda uygulanabileceğini düşündürmektedir. Gastrointestinal fonksiyon bozukluğu, bakteriyel aşırı üreme gibi nedenlerle gelişen hiperlaktatemi genel olarak D-laktatın artışı sonucu oluşabilmektedir. Bu da ishallerde biyobelirteç olarak D-laktatın daha uygun olabileceğini düşündürmektedir. Fakat ishal birçok hastalığın semptomu olabileceğinden çalışmamız kapsamında ölçülen serum total laktat konsantrasyonu, hiperlaktateminin sebebini bulmamız konusunda bizleri kısıtlayan bir faktör olarak karşımıza çıkabilmektedir.

Sonuç olarak ishali köpeklerde gastrointestinal biyobelirteçlerden zonulin ve laktat düzeylerinin kandaki konsantrasyonlarının arttığı ve ishale bağlı olarak bağırsaklarda meydana gelebilecek hasarın tespitinde zonulin ve laktatın dikkate alınabileceği, bu belirteçlerin ishalin prognozu ve sağaltımının takibinde kullanılabileceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- Allen, S. E., & Holm, J. L. (2008). Lactate: physiology and clinical utility. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(2), 123-132.
- Arrieta, M. C., Bistriz, L., & Meddings, J. B. (2006). Alterations in intestinal permeability. *Gut*, 55(10), 1512-1520.
- Arrieta, M. C., Madsen, K., Doyle, J., & Meddings, J. (2009). Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse. *Gut*, 58(1), 41-48.
- Banfield Pet Hospital. (2012). *State of Pet Health 2012 Report*. Banfield Pet Hospital. www.stateofpethealth.com/Content/pdf/State_of_Pet_Health_2012 adresinden erişildi.
- Barclay, G. R., & Turnberg, L. A. (1988). Effect of moderate exercise on salt and water transport in the human jejunum. *Gut*, 29(6), 816-820.
- Benard, A., Desreumeaux, P., Huglo, D., Hoorelbeke, A., Tonnel, A. B., & Wallaert, B. (1996). Increased intestinal permeability in bronchial asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 97(6), 1173-1178.
- Berkes, J., Viswanathan, V. K., Savkovic, S. D., & Hecht, G. (2003). Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effects on the tight junction barrier, ion transport, and inflammation. *Gut*, 52(3), 439-451.
- Blake, A. B. (2017). *Fecal Lactate Concentrations in Dogs with Gastrointestinal Disease* (Doctoral dissertation).
- Branski, D., Fasano, A., & Troncone, R. (2006). Latest developments in the pathogenesis and treatment of celiac disease. *The Journal of Pediatrics*, 149(3), 295-300.
- Brorsson, C., Hansen, N. T., Bergholdt, R., Brunak, S., & Pociot, F. (2010). The type 1 diabetes-HLA susceptibility interactome-Identification of HLA genotype-specific disease genes for type 1 diabetes. *PLoS One*, 5(3), e9576.

- Brunori, L. (2020). Clinical use of plasma lactate in the emergency patient. Practice from improve international. <https://veterinary-practice.com/article/clinical-use-of-plasma-lactate-in-the-emergency-patient>.
- Buhner, S., Buning, C., Genschel, J., Kling, K., Herrmann, D., Dignass, A., ... & Lochs, H. (2006). Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation?. *Gut*, 55(3), 342-347.
- Burrows C. F., Batt, R. M., Sherding, R. G. (1995). Diseases of the small intestine. In Textbook of Veterinary Internal Medicine. Vol 2. 4th edn. Eds S. J. Ettinger, E. C. Feldman. Philadelphia, W. B. Saunders, 1169-1232.
- Celi, P., Cowieson, A. J., Fru-Nji, F., Steinert, R. E., Klünter, A. M., & Verlhac, V. (2017). Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: new opportunities for sustainable animal production. *Animal Feed Science and Technology*, 234, 88-100.
- Chow, J., Tang, H., & Mazmanian, S. K. (2011). Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Current Opinion in Immunology*, 23(4), 473-480.
- Christopher, M. M., Eckfeldt, J. H., & Eaton, J. W. (1990). Propylene glycol ingestion causes D-lactic acidosis. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 62(1), 114-118.
- Clemente, M. G., De Virgiliis, S., Kang, J. S., Macatagney, R., Musu, M. P., Di Pierro, M. R., ... & Fasano, A. (2003). Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut*, 52(2), 218-223.
- Clemente, M. G., Musu, M. P., Troncone, R., Volta, U., Congia, M., Ciacci, C., ... & De Virgiliis, S. (2004). Enterocyte actin autoantibody detection: a new diagnostic tool in celiac disease diagnosis: results of a multicenter study. *American Journal of Gastroenterology*, 99(8), 1551-1556.
- Cortellini, S., Seth, M., & Kellett-Gregory, L. M. (2015). Plasma lactate concentrations in septic peritonitis: a retrospective study of 83 dogs (2007–2012). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 25(3), 388-395.

- Davis, M. S., Willard, M. D., Williamson, K. K., Steiner, J. M., & Williams, D. A. (2005). Sustained strenuous exercise increases intestinal permeability in racing Alaskan sled dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(1), 34-39.
- De Magistris, L., Secondulfo, M., Iafusco, D., Carbone, A. G., Urlio, A., Pontoni, G., & Carratu, R. (1996). Altered mannitol absorption in diabetic children. *The Italian Journal of Gastroenterology*, 28(6), 367-367.
- Díaz-Coránguez, M., Segovia, J., López-Ornelas, A., Puerta-Guardo, H., Ludert, J., Chávez, B., ... & González-Mariscal, L. (2013). Transmigration of neural stem cells across the blood brain barrier induced by glioma cells. *PloS one*, 8(4), e60655.
- Drago, S., El Asmar, R., Di Pierro, M., Grazia Clemente, M., Sapone, A. T. A., Thakar, M., ... & Fasano, A. (2006). Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 41(4), 408-419.
- Duvoisin, G., Lopez, R. N., Day, A. S., Lemberg, D. A., Geary, R. B., & Leach, S. T. (2017). Novel biomarkers and the future potential of biomarkers in inflammatory bowel disease. *Mediators of inflammation*, 2017.
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *science*, 308(5728), 1635-1638.
- El Asmar, R., Panigrahi, P., Bamford, P., Berti, I., Not, T., Coppa, G. V., ... & Fasano, A. (2002). Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*, 123(5), 1607-1615.
- Ewaschuk, J. B., Naylor, J. M., & Zello, G. A. (2005). D-lactate in human and ruminant metabolism. *The Journal of nutrition*, 135(7), 1619-1625.
- Fall, P. J., & Szerlip, H. M. (2005). Lactic acidosis: from sour milk to septic shock. *Journal of intensive care medicine*, 20(5), 255-271.

- Fasano, A. (2012). Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10(10), 1096-1100.
- Fasano, A. (2012). Leaky gut and autoimmune diseases. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 42(1), 71-78.
- Fasano, A. (2008). Physiological, pathological, and therapeutic implications of zonulin-mediated intestinal barrier modulation: living life on the edge of the wall. *The American Journal of Pathology*, 173(5), 1243-1252.
- Fasano, A., & Shea-Donohue, T. (2005). Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, 2(9), 416-422.
- Fasano, A. (2011). Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiological reviews*.
- Fasano, A. (2012). Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1258(1), 25.
- Farhadi, A., Banan, A. L. I., Fields, J., & Keshavarzian, A. L. I. (2003). Intestinal barrier: an interface between health and disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 18(5), 479-497.
- Fava, F. & Danese, S. (2011). Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe?. *World journal of Gastroenterology: WJG*, 17(5), 557.
- Feldman, M., & Schiller, L. R. (1983). Disorders of gastrointestinal motility associated with diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 98(3), 378-384.
- Flick, M. J., & Konieczny, S. F. (2002). Identification of putative mammalian D-lactate dehydrogenase enzymes. *Biochemical and biophysical research communications*, 295(4), 910-916.
- Groschwitz, K. R., & Hogan, S. P. (2009). Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 124(1), 3-20.

- Hall, D. M., Buettner, G. R., Oberley, L. W., Xu, L., Matthes, R. D., & Gisolfi, C. V. (2001). Mechanisms of circulatory and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 280(2), H509-H521.
- Halperin, M. L., & Kamel, K. S. (1996). D-lactic acidosis: turning sugar into acids in the gastrointestinal tract. *Kidney international*, 49(1), 1-8.
- Hayes, G., Mathews, K., Doig, G., Kruth, S., Boston, S., Nykamp, S., ... & Dewey, C. (2010). The acute patient physiologic and laboratory evaluation (APPLE) score: a severity of illness stratification system for hospitalized dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(5), 1034-1047.
- Hayes, G., Mathews, K., Doig, G., Kruth, S., Boston, S., Nykamp, S., ... & Dewey, C. (2011). The Feline Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation (Feline APPLE) Score: a severity of illness stratification system for hospitalized cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1), 26-38.
- Heilmann, R. M., & Steiner, J. M. (2018). Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 32(5), 1495-1508.
- Heilmann, R. M. (2015). Evaluation of canine S100A12 and sRAGE as novel disease markers in dogs with inflammatory bowel disease. Texas A&M University.
- Heyman, M. (2000). Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(sup2), 137S-146S.
- Hijazi, Z., Molla, A. M., Al-Habashi, H., Muawad, W. M. R. A., & Sharma, P. N. (2004). Intestinal permeability is increased in bronchial asthma. *Archives of Disease in Childhood*, 89(3), 227-229.
- Hove, H., & Mortensen, P. B. (1995). Colonic lactate metabolism and D-lactic acidosis. *Digestive diseases and sciences*, 40(2), 320-330.

- Hughes, D., Rozanski, E. R., Shofer, F. S., Laster, L. L., & Drobatz, K. J. (1999). Effect of sampling site, repeated sampling, pH, and PCO₂ on plasma lactate concentration in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 60(4), 521-524.
- Kamel, K. S., Oh, M. S., & Halperin, M. L. (2020). L-lactic acidosis: pathophysiology, classification, and causes; emphasis on biochemical and metabolic basis. *Kidney International*, 97(1), 75-88.
- Kienzle, E. (1994). Effect of carbohydrates on digestion in the cat. *The Journal of Nutrition*, 124, 2568-2571.
- Kogut, M. H., & Arsenault, R. J. (2016). Gut health: The new paradigm in food animal production. *Frontiers in Veterinary Science*, 3, 71.
- Korjamo, T., Heikkinen, A. T., & Mönkkönen, J. (2009). Analysis of unstirred water layer in in vitro permeability experiments. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(12), 4469-4479.
- Kowlgi, N. G., & Chhabra, L. (2015). D-lactic acidosis: an underrecognized complication of short bowel syndrome. *Gastroenterology research and practice*, 2015.
- Kruse, J. A., & Carlson, R. W. (1987). Lactate metabolism. *Critical care clinics*, 3(4), 725-746.
- Lagutchik, M. S., Ogilvie, G. K., Hackett, T. B., & Wingfield, W. E. (1998). Increased lactate concentrations in III and injured dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 8(2), 117-127.
- Lambert, G. P. (2009). Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *Journal of Animal Science*, 87, 101-108.
- Lammers, K. M., Lu, R., Brownley, J., Lu, B., Gerard, C., Thomas, K., ... & Fasano, A. (2008). Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*, 135(1), 194-204.
- Lamprecht, M., & Frauwallner, A. (2012). Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. *Acute Topics in Sport Nutrition*, 59, 47-56.

- Lange, H., & Jäckel, R. (1994). Usefulness of plasma lactate concentration in the diagnosis of acute abdominal disease. *The European Journal of Surgery= Acta Chirurgica*, 160(6-7), 381-384.
- Lawrence, Y., & Lidbury, J. (2015). Symptomatic management of primary acute gastroenteritis. *Today's Veterinary Practice*, 2015, 46-52.
- Liu, Z., Li, C., Huang, M., Tong, C., Zhang, X., Wang, L., ... & Wang, J. (2015). Positive regulatory effects of perioperative probiotic treatment on postoperative liver complications after colorectal liver metastases surgery: a double-center and double-blind randomized clinical trial. *BMC Gastroenterology*, 15(1), 1-14.
- Lorenz, I. (2004). Influence of D-lactate on metabolic acidosis and on prognosis in neonatal calves with diarrhoea. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 51(9-10), 425-428.
- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
- Luft, F. C. (2001). Lactic acidosis update for critical care clinicians. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12(1), 15-19.
- Madara, J. L., JL, M., & JS, T. (1980). Structural abnormalities of jejunal epithelial cell membranes in celiac sprue. *Lab Invest*, 43(1980), 254-261.
- Manohar, M. U. R. L. I. (1986). Blood flow to the respiratory and limb muscles and to abdominal organs during maximal exertion in ponies. *The Journal of Physiology*, 377(1), 25-35.
- Marks, S. (2013). Diarrhea. in washabau rw, Day MJ (eds): Canine and Feline Gastroenterology. St. Louis: elsevier, pp 99-108.
- Marti, R., Varela, E., Segura, R. M., Alegre, J., SuRINACH, J. M., & Pascual, C. (1997). Determination of D-lactate by enzymatic methods in biological fluids: study of interferences. *Clinical Chemistry*, 43(6), 1010-1015.

- McMichael, M. A., Lees, G. E., Hennessey, J., Sanders, M., & Boggess, M. (2005). Serial plasma lactate concentrations in 68 puppies aged 4 to 80 days. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 15(1), 17-21.
- Meddings, J. B., Jarand, J., Urbanski, S. J., Hardin, J., & Gall, D. G. (1999). Increased gastrointestinal permeability is an early lesion in the spontaneously diabetic BB rat. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 276(4), 951-957.
- Michael S, Gregory K, Timothy B, Wayne E. (1998). Increased lactate concentrations in ill and injured dogs. *J Vet Emerg and Crit Care*, 8: 117–127.
- Michielan, A., & D’Inca, R. (2015). Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. *Mediators of inflammation*, 2015.
- Mila, H., Grellet, A., Mariani, C., Feugier, A., Guard, B., Suchodolski, J., ... & Chastant-Maillard, S. (2017). Natural and artificial hyperimmune solutions: impact on health in puppies. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 163-169.
- Mooradian, A. D., Morley, J. E., Levine, A. S., Prigge, W. F., & Gebhard, R. L. (1986). Abnormal intestinal permeability to sugars in diabetes mellitus. *Diabetologia*, 29(4), 221-224.
- Moreno-Navarrete, J. M., Sabater, M., Ortega, F., Ricart, W., & Fernandez-Real, J. M. (2012). Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. *PLoS One*, 7(5), e37160.
- Moreno, P. S., Wagner, J., Mansfield, C. S., Stevens, M., Gilkerson, J. R., & Kirkwood, C. D. (2017). Characterisation of the canine faecal virome in healthy dogs and dogs with acute diarrhoea using shotgun metagenomics. *PLoS one*, 12(6), e0178433.
- Moreira, A. P. B., Teixeira, T. F. S., Ferreira, A. B., Peluzio, M. D. C. G., & Alfenas, R. D. C. G. (2012). Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *British Journal of Nutrition*, 108(5), 801-809.

- Münnich, A., & Küchenmeister, U. (2014). Causes, diagnosis and therapy of common diseases in neonatal puppies in the first days of life: cornerstones of practical approach. *Reproduction in Domestic Animals*, *49*, 64-74.
- Nind, F. (2011). Saunders Solutions in Veterinary Practice: Small Animal Gastroenterology, Elsevier Saunder, St. Louis, Missouri, 85-87.
- Oliveira, E. P., Burini, R. C., & Jeukendrup, A. (2014). Gastrointestinal complaints during exercise: prevalence, etiology, and nutritional recommendations. *Sports Medicine*, *44*(1), 79-85.
- Olszanecka-Glinianowicz, M., Chudek, J., Kocelak, P., Szromek, A., & Zahorska-Markiewicz, B. (2011). Body fat changes and activity of tumor necrosis factor α system—a 5-year follow-up study. *Metabolism*, *60*(4), 531-536.
- Packer, R. A., Cohn, L. A., Wohlstadter, D. R., Shelton, G. D., Naylor, J. M., Zello, G. A., ... & O'Brien, D. P. (2005). D-lactic acidosis secondary to exocrine pancreatic insufficiency in a cat. *Journal of veterinary internal medicine*, *19*(1), 106-110.
- Packer, R. A., Moore, G. E., Chang, C. Y., Zello, G. A., Abeysekara, S., Naylor, J. M., ... & O'Brien, D. P. (2012). Serum D-lactate concentrations in cats with gastrointestinal disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *26*(4), 905-910.
- Pang, D. S., & Boysen, S. (2007). Lactate in veterinary critical care: pathophysiology and management. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *43*(5), 270-279.
- Parikh, N. I., & Vasan, R. S. (2007). Assessing the clinical utility of biomarkers in medicine. *Biomarkers in Medicine*, *1*(3), 419-436
- Peoc'h, K., Nuzzo, A., Guedj, K., Paugam, C., & Corcos, O. (2018). Diagnosis biomarkers in acute intestinal ischemic injury: so close, yet so far. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, *56*(3), 373-385.
- Petersen, C. (2005). D-lactic acidosis. *Nutrition in Clinical Practice*, *20*(6), 634-645.
- Plenge, R. M. (2010). Unlocking the pathogenesis of celiac disease. *Nature Genetics*, *42*(4), 281-282.

- Poole, R. C., & Halestrap, A. P. (1993). Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 264(4), C761-C782.
- Rand, J. S., Kinnaird, E., Baglioni, A., Blackshaw, J., & Priest, J. (2002). Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16(2), 123-132.
- Rittirsch, D., Flierl, M. A., Nadeau, B. A., Day, D. E., Huber-Lang, M. S., Grailer, J. J., ... & Ward, P. A. (2013). Zonulin as prehaptoglobin2 regulates lung permeability and activates the complement system. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 304(12), L863-L872.
- Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., ... & Collado, M. C. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(1), 26050.
- Rosenstein, P. G., Tennent-Brown, B. S., & Hughes, D. (2018). Clinical use of plasma lactate concentration. Part 1: Physiology, pathophysiology, and measurement. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 28(2), 85-105.
- Sævik, B. K., Skancke, E. M., & Trangerud, C. (2012). A longitudinal study on diarrhoea and vomiting in young dogs of four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 54(1), 1-9.
- Salem, N. Y. (2014). Canine viral diarrhea: clinical, hematologic and biochemical alterations with particular reference to in-clinic rapid diagnosis. *Global Veterinaria*, 13(3), 302-307.
- Saunders, P. R., Kosecka, U., McKay, D. M., & Perdue, M. H. (1994). Acute stressors stimulate ion secretion and increase epithelial permeability in rat intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 267(5), G794-G799.
- Schiller, L. R., Pardi, D. S., Spiller, R., Semrad, C. E., Surawicz, C. M., Giannella, R. A., ... & Sellin, J. H. (2014). Gastro 2013 APDW/WCOG Shanghai working party report: chronic diarrhea: definition, classification, diagnosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 29(1), 6-25.

- Schulz, B. S., Strauch, C., Mueller, R. S., Eichhorn, W., & Hartmann, K. (2008). Comparison of the prevalence of enteric viruses in healthy dogs and those with acute haemorrhagic diarrhoea by electron microscopy. *Journal of Small Animal Practice*, 49(2), 84-88.
- Schumann, M., Kamel, S., Pahlitzsch, M. L., Lebenheim, L., May, C., Krauss, M., ... & Schulzke, J. D. (2012). Defective tight junctions in refractory celiac disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1258(1), 43-51.
- Sharkey, L. C., & Wellman, M. L. (2015). Use of lactate in small animal clinical practice. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(3), 567-577.
- Skardelly, M., Armbruster, F. P., Meixensberger, J., & Hilbig, H. (2009). Expression of zonulin, c-kit, and glial fibrillary acidic protein in human gliomas. *Translational Oncology*, 2(3), 117-120.
- Smithson, K. W., Millar, D. B., Jacobs, L. R., & Gray, G. M. (1981). Intestinal diffusion barrier: unstirred water layer or membrane surface mucous coat?. *Science*, 214(4526), 1241-1244.
- Stevenson, C. K., Kidney, B. A., Duke, T., Snead, E. C., Mainar-Jaime, R. C., & Jackson, M. L. (2007). Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(3), 234-239.
- Stewart, A. S., Pratt-Phillips, S., & Gonzalez, L. M. (2017). Alterations in intestinal permeability: the role of the “leaky gut” in health and disease. *Journal of Equine Veterinary Science*, 52, 10-22.
- Sturgeon, C., & Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*, 4(4), e1251384.
- Suzuki, T. (2013). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cellular and molecular life sciences*, 70(4), 631-659.
- Thomas, K. E., Sapone, A., Fasano, A., & Vogel, S. N. (2006). Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-

dependent: role of the innate immune response in Celiac disease. *The Journal of Immunology*, 176(4), 2512-2521.

Tripathi, A., Lammers, K. M., Goldblum, S., Shea-Donohue, T., Netzel-Arnett, S., Buzzza, M. S., ... & Fasano, A. (2009). Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(39), 16799-16804.

Tubbs, P. K. (1965). THE METABOLISM OF D- α -HYDROXY ACIDS IN ANIMAL TISSUES. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 119(3), 920-926.

Uribarri, J., Oh, M. S., & Carroll, H. J. (1998). D-lactic acidosis: a review of clinical presentation, biochemical features, and pathophysiologic mechanisms. *Medicine*, 77: 73-82.

Vermeire, S., Van Assche, G., & Rutgeerts, P. (2006). Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys?. *Gut*, 55(3), 426-431.

Volkman, M., Steiner, J. M., Fosgate, G. T., Zentek, J., Hartmann, S., & Kohn, B. (2017). Chronic diarrhea in dogs—retrospective study in 136 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(4), 1043-1055.

Wang, W., Uzzau, S., Goldblum, S. E., & Fasano, A. (2000). Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *Journal of Cell Science*, 113(24), 4435-4440.

Ware, L. B., & Matthay, M. A. (2000). The acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine*, 342(18), 1334-1349.

Watts, T., Berti, I., Sapone, A., Gerarduzzi, T., Not, T., Zielke, R., & Fasano, A. (2005). Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(8), 2916-2921.

Wells, J. M., Brummer, R. J., Derrien, M., MacDonald, T. T., Troost, F., Cani, P. D., ... & Garcia-Rodenas, C. L. (2017). Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 312(3), G171-G193.

- Willard, MD. (2013). Diarrhea. In Nelson RW, Couto CG. (eds): Small Animal Internal Medicine. St. Louis: Elsevier, 376-380.
- Wolters, V. M., Alizadeh, B. Z., Weijerman, M. E., Zhernakova, A., van Hoogstraten, I. M., Mearin, M. L., ... & Schreurs, M. W. (2010). Intestinal barrier gene variants may not explain the increased levels of antigliadin antibodies, suggesting other mechanisms than altered permeability. *Human Immunology*, *71*(4), 392-396.
- Wood Heckman, L. K., DeBoer, M. D., & Fasano, A. (2020). Zonulin as a potential putative biomarker of risk for shared type 1 diabetes and celiac disease autoimmunity. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, *36*(5), e3309.
- Wyatt, J., Vogelsang, H., Hübl, W., Waldhoer, T., & Lochs, H. (1993). Intestinal permeability and the prediction of relapse in Crohn's disease. *The Lancet*, *341*(8858), 1437-1439.
- Zahorska-Markiewicz, B., Janowska, J., Olszanecka-Glinianowicz, M., & Zurakowski, A. (2000). Serum concentrations of TNF- α and soluble TNF- α receptors in obesity. *International Journal of Obesity*, *24*(11), 1392-1395.
- Zacher, L. A., Berg, J., Shaw, S. P., & Kudej, R. K. (2010). Association between outcome and changes in plasma lactate concentration during presurgical treatment in dogs with gastric dilatation-volvulus: 64 cases (2002–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *236*(8), 892-897.
- Zhang, D., Zhang, L., Zheng, Y., Yue, F., Russell, R. D., & Zeng, Y. (2014). Circulating zonulin levels in newly diagnosed Chinese type 2 diabetes patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *106*(2), 312-318.

EKLER

Ek 1



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 09/07/2020

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2020 Yılı II. Oturum
Sayı : 64583101/2020/036
Proje Başlığı : İshalli köpeklerde gastrointestinal biyobelirteçlerin araştırılması
Proje Yürütücüsü : Serdar PAŞA
Proje Ekibi : Tugay ŞEN

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması

İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Murat SARIERLER
Başkan

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Turhan DOST
Üye

Prof. Dr. Oğuz TÜRKÖZAN
(Yıllık İzinli)

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Doç. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Umur DEMETOĞLU
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAĞ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAASLAN
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce GÜLER Sor. Vet. Hek.

Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye

Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye

Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ
Sor. Vet. Hek.

Mustafa COBANOĞLU
Sivil Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“İshalli Köpeklerde Gastrointestinal Biyobelirteçlerin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezimdeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Tugay ŞEN

16/11/2021

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ŞEN Tugay
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : İstanbul / 12.02.1993
Telefon : 05366136292
E-mail : tugaysen10@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2017
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2021