

T.C.

AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK İÇ HASTALIKLARI  
DOKTORA PROGRAMI  
DR-2024-0031

**DENEYSEL ENDOTOKSEMİLİ BUZAĞILARDA  
İNTESTİNAL BİYOBELİRTEÇLERİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Gizem GÖNÜLVEREN**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Mehmet GÜLTEKİN**

Bu tez, TÜBİTAK tarafından 120O638 proje numarası ile desteklenen araştırmanın bir kısmından gerçekleştirilmiştir.

**AYDIN-2024**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, kendisiyle çalışma imkânı bulmaktan mutluluk duyduğum danışmanım Prof. Dr. Mehmet GÜLTEKİN'e,

Proje sürecindeki katkıları ve rehberlikleri için Prof. Dr. Kerem URAL, Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA, Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN ve Prof. Dr. Murat BOYACIOĞLU'na,

Doktora eğitimim süresince her konuda yardımcı olan Prof. Dr. Serdar PAŐA ve Doç. Dr. Songül ERDOĞAN'a,

Yoğun laboratuvar analizlerinin gerçekleŐtirmesinde destek ve yardımlarından dolayı Dr. Gamze GÜLTEKİN ve Sıla DEMİR'e,

Tez çalıŐmam boyunca buzağırlarla birlikte geçirdiğimiz zorlu analiz süreçlerinde bana eşlik eden ekip arkadaşlarım Uzm. Vet. Hek. Onur YILMAZER ve Vet. Hek. Eylül SÖNMEZ'e,

Lisans eğitimimden bu yana her anımda sevgisi ve desteğiyle yanımda olduğunu hissettiren Vet. Hek. Pelin GÜMRÜKÇÜ'ye ve geride kalan bu süreçte desteğini eksik etmeyen Vet. Hek. Ahmet GÜRSEL'e,

Bu tez çalıŐmasının gerçekleŐmesine büyük katkı sağlayan, çalışmamızda yer alan buzağırlara,

Ve son olarak, hayatım boyunca her zaman arkamda olan, kararlarımı hoşgörü ve sabır ile destekleyen aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
RESİMLER DİZİNİ .....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sepsis.....	3
2.2. Deneysel Endotoksemi .....	4
2.3. Sağlıklı Gastrointestinal Fonksiyon .....	7
2.3.1. Sindirim ve Emilim .....	8
2.3.2. Mikrobiyota .....	8
2.3.3. Gastrointestinal Bariyer ve Bağışıklık Sistemi.....	9
2.3.4. Bağırsağın Nöroendokrin ve Motor Fonksiyonu.....	10
2.4. Sepsiste ve Endotoksemide İntestinal Disfonksiyon .....	11
2.4.1. Dismotilite .....	12
2.4.2. Disbiyozis .....	12
2.4.3. Bariyer Disfonksiyonu.....	13
2.4.4. Bakteriyel Translokasyon .....	14
2.5. İntestinal Disfonksiyonun Tanısı.....	18

2.6. İntestinal Biyobelirteçler.....	18
2.6.1. Sitrulin .....	18
2.6.2. İntestinal Yağ Asidi Bağlayıcı Proteinler.....	20
2.6.3. Zonulin .....	22
2.6.4. İntestinal Alkalen Fosfataz .....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Hayvan Materyali .....	27
3.2. Klinik Muayene .....	29
3.3. Endotokseminin Oluşturulması .....	30
3.4. Örneklerin Alınması ve Saklanması .....	31
3.5. Analizlerin Gerçekleştirilmesi.....	31
3.5.1. Hematolojik ve Biyokimyasal Değerlendirme .....	32
3.5.2. Kan Gazları Analizi .....	33
3.5.3. Sitokinler ve Akut Faz Proteinleri .....	34
3.5.4. İntestinal Biyobelirteçler .....	34
3.6. İstatistiksel Analizler .....	35
4. BULGULAR .....	36
4.1. Klinik Muayene ve Skorelama .....	36
4.2. Hematolojik Bulgular .....	36
4.3. Kan Gazları ve Elektrolit Bulguları.....	37
4.4. Biyokimyasal Bulgular .....	37
4.5. Sitokinler ve Akut Faz Proteinleri .....	37
4.6. İntestinal Biyobelirteçler .....	38
5. TARTIŞMA.....	48
5.1. Klinik Muayene ve Skorelama .....	49
5.2. Hematoloji ve Kan Gazı Parametreleri.....	50
5.3. Biyokimyasal Parametreler.....	52

5.4. Sitokinler ve Akut Faz Proteinleri .....	53
5.5. İntestinal Biyobelirteçler .....	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	60
KAYNAKLAR.....	61
EKLER .....	90
Ek 1 ADÜ-HADYEK.....	90
BİLİMSEL ETİK BEYANI .....	91
ÖZ GEÇMİŞ.....	92

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

**%:** Yüzde

**≈:** Yaklaşık

**AP:** Alkalen Fosfataz

**AST:** Aspartat Aminotransferaz

**°C:** Santigrat Derece

**CD14:** Başkalaşım Kümesi 14

**EGFR:** Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

**FECV:** Kedi Enterik Koronavirüs

**FIP:** Kedi Enfeksiyöz Peritonitis

**GALT:** Bağırsakla İlişkili Lenfoid Doku

**HCT:** Hematokrit Değer

**Hp:** Haptoglobin

**IAP:** İntestinal Alkalın Fosfataz

**IBD:** İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

**IBS:** İrritabl Bağırsak Sendromu

**IL:** İnterlökin

**IRAK:** İnterleukin-1 Reseptör İlişkili Kinaz

**iFABP:** İntestinal Yağ Asidi Bağlayıcı Protein

**LC/MS/MS:** Sıvı Kromatografisi/Sıralı Kütle Spektrometrisi

**LPS:** Lipopolisakkarit

**MALT:** Mukozayla İlişkili Lenfoid Doku

**MODS:** Çoklu Organ Fonksiyon Bozukluğu Sendromu

**MyD88:** Myeloid Diferansiyasyon Protein

**NaCl:** Sodyum Klorür

**NF:** Nükleer Faktör

**NO:** Nitrik Oksit

**PAR2:** Proteaz-Aktive2 Reseptörü

**PLT:** Trombosit

**Pre-Hp:** Prehaptoglobin

**RBC:** Eritrosit

**SAA:** Serum Amiloid A

**SIRS:** Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu

**SOFA:** Ardışık Organ Yetmezlik Değerlendirme

**TJ:** Tight Junction

**TLR:** Toll Benzeri Reseptörler

**TNF:** Tümör Nekroz Faktörü

**WBC:** Total Lökosit

**ZO:** Zonula Occludens

**Zot:** Zonula-Occludens toksini

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İntravenöz <i>E. coli</i> LPS uygulamasından sonra inflamatuvar yanıt ve klinik bulgular. ..7	
Şekil 2. Gastrointestinal bariyer. .... 10	10
Şekil 3. İntestinal epitel, immun sistem, kommensal bakteriler, enterik sinir sistemi ve hormonlar arasındaki ilişki ..... 11	11
Şekil 4. Sağlıkta ve sepsisle seyreden kritik hastalıklarda bağırsak mikro ortamı..... 13	13
Şekil 5. Sağlıkta ve kritik hastalıkta bağırsak ortamı ..... 15	15
Şekil 6. LPS ile bağırsak epitelyal hücreler arasındaki etkileşim ..... 16	16
Şekil 7. Sitrulin metabolizması ..... 19	19
Şekil 8. Normal enterosit fonksiyonu ve bütünlüğünün enterosit hasarı ve disfonksiyonu ile şematik olarak karşılaştırılması ..... 21	21
Şekil 9. Zonulin etki mekanizması. .... 23	23
Şekil 10. IAP'ın koruyucu etkileri ..... 25	25
Şekil 11. Sitrulin konsantrasyonu zamana bağlı değişimi..... 38	38
Şekil 12. iFABP konsantrasyonu zamana bağlı değişimi..... 39	39
Şekil 13. IAP aktivitesi zamana bağlı değişimi..... 39	39
Şekil 14. Zonulin konsantrasyonu zamana bağlı değişimi ..... 40	40
Şekil 15. İntestinal biyobelirteçlerin zamana bağlı değişimi yüzde grafiği. .... 40	40



## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Buzağuların barındırılma ortamı.....	28
<b>Resim 2.</b> Araştırmada kullanılan buzağular.....	28
<b>Resim 3.</b> Klinik muayene formu.....	29
<b>Resim 4.</b> Klinik muayenenin gerçekleştirilmesi.....	30
<b>Resim 5.</b> Endotoksemi uygulaması için temin edilen kullanıma hazır LPS çözeltisi.....	31
<b>Resim 6.</b> Analizlerin gerçekleştirilmesi.....	32
<b>Resim 7.</b> Kan sayım cihazı.....	33
<b>Resim 8.</b> Otoanalizör.....	33
<b>Resim 9.</b> Kan gazları analiz cihazı.....	34

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> LPS uygulaması sonrası intestinal geçirgenliğin değerlendirildiği çalışmalar.....	17
<b>Tablo 2.</b> Klinik skörlama değerleri. ....	41
<b>Tablo 3.</b> Buzağıların vital parametreleri .....	42
<b>Tablo 4.</b> Hematolojik parametreler. ....	43
<b>Tablo 5.</b> Kan gazları ve elektrolit parametreleri .....	44
<b>Tablo 6.</b> Biyokimyasal parametreler .....	45
<b>Tablo 7.</b> Sitokin yanıt ve akut faz proteinleri. ....	46
<b>Tablo 8.</b> İntestinal biyobelirteçler. ....	47

## ÖZET

### DENEYSEL ENDOTOKSEMİLİ BUZAĞILARDA İNTESTİNAL BİYOBELİRTEÇLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Gönülveren, G. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik İç Hastalıkları Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2024.**

**Amaç:** Buzağılarda deneysel endotoksemi sürecinde intestinal biyobelirteçler kapsamında sitrulin, intestinal yağ asidi bağlayıcı protein (iFABP), zonulin konsantrasyonları ve intestinal alkalın fosfataz (IAP) aktivitesindeki değişimlerin belirlenmesidir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmanın hayvan materyalini 1-4 haftalık yaşlar arasında 6 sağlıklı Holstein ırkı erkek buzağı oluşturdu. Endotoksemi oluşturmak için *E. coli* 0111:B4; Sigma, lipopolisakkarit 1 µg/kg dozda, 100 ml %0,9'luk NaCl solüsyonu içinde çözdürülerek, intravenöz yolla 5 dakika içinde uygulandı. Buzağuların uygulama öncesi (0. saat) ve uygulama sonrası 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 ve 48. saatlerde kan alındı. Klinik muayene kapsamında vücudun tutuluşu, deri elastikiyeti, mukoz membranlar, kapiller dolun zamanı, göz küresinin orbita çukurluğundaki konumu, kalp ve solunum frekansı, vücut sıcaklığı, emme refleksi, mental refleksi, ayağa kalkabilme durumu, dışkı karakteri değerlendirildi. Laboratuvar analizler kapsamında tam kan sayımı, kan gazları, rutin serum biyokimya testlerine ek olarak sitokinler (interleukin 1-β, interleukin 6, Tümör nekroz faktör-alfa), akut faz proteinleri (serum amiloid A, haptoglobin) değerlendirildi. İntestinal biyobelirteç olarak sitrulin, iFABP, zonulin konsantrasyonları ve IAP aktivitesi belirlendi.

**Bulgular:** Buzağuların klinik skorlamaları zamana göre değerlendirildiğinde değişikliklerin daha çok 30. dakika ve 4. saat arasında gerçekleştiği ve genel olarak 12. saat itibariyle normal değerlere yaklaştığı gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Vital parametrelerde vücut sıcaklığı, solunum ve kalp frekanslarında 0. saate göre farklı zamanlarda anlamlı yükselmeler belirlendi ( $p<0,05$ ). Hematolojik değerlendirmeler kapsamında WBC ve PLT sayılarında 0. saate göre farklı saatlerde anlamlı azalmalar bulundu ( $p<0,001$ ). Kan gazları ve elektrolit parametrelerinde zamana göre değişiklikler izlenmekle birlikte, yalnızca laktat konsantrasyonundaki farklılıklar anlamlılık gösterdi ( $p<0,01$ ). Rutin biyokimyasal testler kapsamında glukoz ve üre konsantrasyonlarında, AST, ALP enzim aktivitelerinde farklı zamanlarda anlamlı değişiklikler belirlendi ( $p<0,01$ ). Akut faz proteinleri değerlendirildiğinde serum amiloid A düzeylerinde zamana göre farklılıklarda önem belirlenemezken, haptoglobin konsantrasyonu 2, 8, 12 ve 24.

saatlerde 0. saate göre yüksek bulundu ( $p<0,01$ ). İntestinal biyobelirteçler kapsamında sitrulin konsantrasyonu başlangıç (0. saat) değeri ile karşılaştırıldığında 30. dakikadan itibaren anlamlı düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Ortalama iFABP konsantrasyonu zamana göre değerlendirildiğinde 1, 12, 24. saatlerdeki değişimler 0. saate göre anlamlı yüksekti ( $p<0,01$ ). Zamana göre değişiklikler belirlenmekle birlikte IAP ve zonulin konsantrasyonlarındaki farklılıklar istatistiksel anlam göstermedi.

**Sonuç:** Endotoksemi sürecinde başlangıç değerlerine göre sitrulin konsantrasyonlarının belirgin olarak azaldığı, iFABP konsantrasyonunda farklı saatlerde artış olduğu görüldü. Zamana göre değişiklikler belirlenmekle birlikte IAP, zonulin konsantrasyonlarındaki farklılıklar istatistiksel anlam göstermedi. Elde edilen sonuçlar temelinde bağırsak hasarı ya da sepsisle seyreden buzağı hastalıklarında intestinal hasarın değerlendirildiği daha geniş popülasyonları içeren yeni çalışmaların gerçekleştirilmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Buzağı, Deneysel Endotoksemi, İntestinal Biyobelirteç.

## ABSTRACT

### EVALUATION OF INTESTINAL BIOMARKERS IN CALVES WITH EXPERIMENTAL ENDOTOXEMIA

**Gönülveren, G. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Veterinary Internal Medicine Program, Phd Thesis, Aydın, 2024.**

**Objective:** The determination of changes in citrulline, intestinal fatty acid-binding protein (iFABP), zonulin concentrations and intestinal alkaline phosphatase (IAP) activity within the scope of intestinal biomarkers during the experimental endotoxemia process in calves.

**Materials and Methods:** The animal material of the study consisted of 6 healthy male Holstein calves aged 1-4 weeks. To induce endotoxemia, *Escherichia coli* 0111:B4; lipopolysaccharide was dissolved in 100 ml of 0.9% NaCl solution at a dose of 1 µg/kg and administered intravenously in 5 minutes. Blood samples were taken from the calves at pre-application (0th hours) and at 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48th hours after administration. Clinical examinations included assessment of body posture, skin elasticity, mucous membranes, capillary refill time, position of the eye globe in the orbital cavity, heart and respiratory rates, body temperature, suckling reflex, mental reflex, ability to stand and fecal character. Laboratory analyses encompassed complete blood count, blood gases, routine serum biochemistry tests, along with evaluation of cytokines (interleukin 1-β, interleukin 6, tumor necrosis factor-alpha), acute-phase proteins (serum amyloid A, haptoglobin). As intestinal biomarkers, concentrations of citrulline, iFABP, zonulin, and IAP activity were determined.

**Results:** Hematological parameters revealed significant decreases in WBC and PLT counts at various hours compared to the 0th hour ( $p<0.001$ ). Although changes in blood gases and electrolyte parameters were observed over time, only differences in lactate concentration showed significance ( $p<0.01$ ). Evaluation of routine biochemical tests indicated significant changes in glucose and urea concentrations, as well as AST and ALP enzyme activities at different times ( $p<0.01$ ). When acute-phase proteins were assessed, SAA levels showed no significant differences over time, whereas haptoglobin concentration was higher at the 2nd, 8th, 12th, and 24th hours compared to the 0th hour ( $p<0.01$ ). Concerning intestinal biomarkers, citrulline concentration was significantly lower from the 30th minute onwards compared to the

baseline (0th hour) ( $p < 0.05$ ). The average iFABP concentration showed significant increases at 1st, 12th, and 24th hours compared to the 0th hour ( $p < 0.01$ ). Although changes over time were observed, differences in IAP and zonulin concentrations did not reach statistical significance.

**Conclusion:** The concentration of citrulline was markedly decreased during the endotoxemia process, while iFABP concentration showed increases at different hours compared to baseline values. Although changes over time were observed, differences in IAP and zonulin concentrations did not reach statistical significance. Based on the obtained results, it is considered beneficial to conduct new studies involving larger populations, evaluating intestinal damage in calf diseases associated with intestinal injury or sepsis.

**Keywords:** Calf, Experimental Endotoxemia, Intestinal Biomarker.

# 1. GİRİŞ

Sepsis, enfeksiyona karşı gelişen sistemik yanıt ve sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (Systemic Inflammatory Response Syndrome-SIRS) varlığı ile karakterizedir. SIRS, yaygın inflamasyona verilen fizyolojik yanıtı tanımlamak için kullanılan spesifik olmayan bir terimdir. SIRS, vücudun zararlı bir stres faktörüne (enfeksiyon, travma, cerrahi, akut inflamasyon, iskemi veya reperfüzyon, kanser) aşırı tepkisidir. Şiddetli sepsiste, sepsise ek olarak organ işlev bozukluğu (böbrek, akciğer, karaciğer, kalp, bağırsak vb.) görülebilmektedir (Pardon ve Deprez 2018). İshalli buzağılarda, sepsis genel durumun hızla bozulmasına, akut ölüme neden olabilmektedir (Basoglu ve diğerleri, 2014; Fecteau ve diğerleri, 2009; Lofstedt ve diğerleri, 1999). Neonatal buzağılarda ishal durumunda, morbidite ve mortalitenin azaltılabilmesi için sepsisin erken teşhis edilip hızla tedaviye başlanması önem arz etmektedir (Ballou ve diğerleri, 2011; Basoglu ve diğerleri, 2014).

Lipopolisakkarit (LPS), Gram-negatif bakterilerin dış membranının yapısal bir parçasıdır. Lipopolisakkaridin intravenöz olarak uygulanması, septik hastalıklarda gözlenen başlangıç inflamatuvar yanıtına benzer kısa süreli, iyi tolere edilen ve kontrollü bir sistemik inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır (Bahador ve Cross, 2007). Bu bakımdan, deneysel endotoksemi modellerinin sepsis ve septik şokun patofizyolojisini inceleme amacıyla yıllardır kullanıldığı, standardizasyon ve tekrarlanabilirlik açısından avantajlar sunduğu ifade edilmiştir (Andreasen ve diğerleri, 2008; Hoffman ve Natanson, 1993). Sığır ve buzağılarda LPS, endotoksemi ve Gram-negatif sepsis gibi önemli klinik durumların sorumlusu olarak kabul edilmektedir (Cullor, 1992; Olson ve diğerleri, 1995). Sığırlarda akut faz yanıtı incelemek için çeşitli deneysel modeller bildirilmiştir. *Escherichia coli* (*E. coli*) LPS, inflamatuvar yanıtın indüklenmesi açısından en sık uygulanan endotoksin türüdür. O55:B5 ve O111:B4 serotipleri, çalışmalar sırasında sıklıkla kullanılan serotiplerdir (Plessers ve diğerleri, 2015).

Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve sepsis ile seyreden kritik hastalıklar bağırsak hareketliliğini ve geçişini değiştirerek mukozal bariyer bütünlüğünü, sıvı-elektrolit ve besinlerin emilimini, immünolojik aktiviteyi ve endokrin işlevi bozarak gastrointestinal fonksiyonun aksamasına neden olmaktadır (Hill, 2013). Gastrointestinal disfonksiyonun bakteriyel translokasyon, sistemik inflamasyon ve çoklu organ disfonksiyon sendromu gelişimi ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır (Piton ve Capellier, 2016). Gastrointestinal disfonksiyonun değerlendirilmesi için basit, pratik ve objektif bir yöntemin bulunmaması durumun yönetimini

ve erken tanıyı zorlaştırmaktadır. Son yıllarda beşeri ve veteriner hekimlikte enterosit hasarının ve işlev bozukluğunun tanımlanmasında biyobelirteçler kullanılmaya başlamıştır. Deneysel ve klinik çalışmalar, farklı biyobelirteçlerin plazma seviyelerinin, gastrointestinal fonksiyonunun çeşitli yönlerini yansıtabileceğini göstermiştir. Gastrointestinal disfonksiyonun tanısında klinik bulgulara ek olarak intestinal biyobelirteçlerin kullanımının hastaların klinik durumlarının değerlendirilmesinde, tedavinin planlanması ve izlenmesinde yeri olabileceği düşünülmektedir (Celi ve diğerleri, 2017).

Bu çalışmada LPS (*E. coli* 0111:B4)'nin intravenöz yolla uygulanması ile endotoksemi oluşturulan neonatal buzağılarda intestinal biyobelirteçler kapsamında sitrulin, iFABP, zonulin konsantrasyonları ve IAP aktivitesindeki değişimlerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Araştırma sonucu elde edilen veriler ile intestinal hasarın erken tanı ve tedavisinin yönetimine katkı sağlayacak yeni projelere temel oluşturması hedeflenmektedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sepsis

İnflamatuar yanıtın temel amacı patojenleri ortadan kaldırmak ve hasarlı dokuyu onarmaktır. İdeal sonuç, durumun kontrol altına alınması, patojenler ve hasarlı dokunun ortadan kaldırılmasıdır. İnflamatuar yanıt lokal hasarlı dokuların ötesine geçtiğinde, yaygın sistemik inflamasyon ortaya çıkmaktadır ve bu durum SIRS olarak bilinen klinik sendromu oluşturmaktadır. SIRS, vücudun zararlı bir stres faktörüne (enfeksiyon, travma, cerrahi, akut inflamasyon, iskemi veya reperfüzyon, kanser) aşırı tepkisidir; bu tepki, etkenin kaynağını sınırlamak ve ortadan kaldırmak içindir. Geniş çaplı otonom, endokrin, hematolojik ve immünolojik değişikliklerin doğrudan aracılığı olan akut faz reaktanlarının salınımını içerir (Chakraborty ve Burns, 2019; McConachie ve Hart, 2016).

Sepsis, bir enfeksiyon (veya şüpheli enfeksiyon) ile sistemik inflamatuvar yanıtın birleşimi olarak tanımlanmaktadır. Şiddetli sepsis ise, bir veya daha fazla organda fonksiyon bozukluğu, hipoperfüzyon bulguları (laktik asidoz, oligüri, bilinç değişikliği) veya hipotansiyonun eklenmesiyle oluşan sepsistir. Septik şok, değişken derecelerde hipovolemik (kapiller sızıntı yoluyla sıvı kaybı), kardiyojenik (sepsisin miyokard depresan etkilerinden) ve dağılım şokunun (sistemik vasküler direncin azalması) bir kombinasyonudur (Fecteau ve diğerleri, 2009; McConachie ve Hart, 2016). Endotoksemi, dolaşımda endotoksin varlığı anlamına gelmektedir, ancak bu terim, endotoksin tarafından indüklenebilen SIRS'in klinik belirtilerini tanımlamak için birbirinin yerine kullanılabilir (McConachie ve Hart, 2016).

SIRS'ın klinik kriterleri insanlarda tanımlanmıştır ve taşikardi, taşipne, hipotermi veya ateş ve lökogram bozukluklarını (lökositoz, lökopeni veya bant nötrofillerinde artış) içermektedir (Bone, 1992). SIRS uzun süreli ve şiddetli ise çoklu organ fonksiyon bozukluğu sendromuna (MODS) ve çoklu organ yetmezliğine neden olabilmektedir. MODS, iki veya daha fazla organ sisteminin, geri dönüşlü organ hasarı nedeniyle işlevsiz hale gelmesiyle ortaya çıkmakta, hematolojik ve serum biyokimyasal parametrelerin rutin olarak izlenmesiyle tespit edilmektedir. Çoklu organ yetmezliği, MODS'deki organ hasarının geri dönüşü olmayan organ fonksiyon bozukluğuna yol açacak kadar şiddetli olması durumunda ortaya çıkmaktadır (Chakraborty ve Burns, 2019; McConachie ve Hart, 2016).

1991, 2001 ve 2016 yıllarında düzenlenen uluslararası konferanslarda yeni sepsis tanımları önerilmiştir (Dellinger ve diğerleri, 2017). Sepsis 2, enfeksiyon, SIRS, çoklu organ yetmezlik sendromu ve dirençli hipotansiyonun varlığına dayanarak hastaları üç gruba ayırmaktadır (sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok). Daha fazla çalışma yapılması ve sepsisin daha iyi anlaşılmasıyla, 2016 yılında yeni Sepsis-3 konsensüs tanımı getirilmiştir. Yeni Sepsis-3 tanımının bir avantajı, hastaları hastalık şiddetine göre sınıflandırmayı sağlamasıdır (Levy ve diğerleri, 2003; Singer ve diğerleri, 2016). Sepsis 3, sepsisi enfeksiyona karşı düzensiz konak yanıtının neden olduğu, yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu olarak tanımlamaktadır. Septik şok, hipovolemi olmadan laktat seviyelerinin 2 mmol/L üzerine çıkması ve ortalama arteriyel basıncın 65 mmHg üzerinde tutulması için vazopressör tedavinin gerektiği durumları ifade etmektedir. Organ disfonksiyonu, Ardışık Organ Yetmezlik Değerlendirme (SOFA) skora göre en az iki puanlık bir artış olarak tanımlanmıştır ve mortalitede %10'dan fazla bir artışa yol açtığı belirlenmiştir (Gül ve diğerleri, 2017; Singer ve diğerleri, 2016).

Sığırlarda sepsis ve ilgili kriterlerin tanımlanması üzerine araştırmalar ise kısıtlıdır (Fecteau ve diğerleri, 1997, Fecteau ve diğerleri, 2009; Lofstedt ve diğerleri, 1999). Genellikle insanlar için belirtilen SIRS kriterleri, sığırlarda farklı klinik durumlar için referans değerler gözetilerek uyarlanmıştır (Aygün ve Yıldız, 2018; Basoglu ve diğerleri, 2014; Coşkun ve diğerleri, 2020; Fecteau ve diğerleri, 2009; 2016; Gultekin ve diğerleri, 2019; Trefz ve diğerleri).

## **2.2. Deneysel Endotoksemi**

LPS, Gram-negatif bakterilerin dış membranının yapısal bir parçasıdır ve bakteriler otolize veya lizise uğradığında salınmaktadır (Tamaki ve diğerleri, 1971). LPS'ler, üç farklı bölümden oluşmaktadır: O-antijen, çekirdek oligosakkarit ve lipid A kısmı. Farklı bakteri türleri arasında, LPS molekülü, çekirdek bölgesi ve O-antijenin bileşimine bağlı olarak bir değişkenlik sergilemektedir. Özellikle O-antijen, 60'dan fazla monosakkarit ve 30 farklı karbonhidrat olmayan bileşenin tanımlandığı bir yapı çeşitliliği göstermektedir (Raetz ve Whitfield, 2002; Schletter ve Heine, 1995). Lipid A bileşeninin, Gram-negatif bakteriler arasında yüksek derecede korunmuş bir yapı olduğu bilinmektedir. Konakçının LPS reseptörleri lipid A bölgesine karşı hedeflenirken, yüzeydeki O-antijen bakterinin serolojik özgünlüğünü tanımlamaktadır (Jerala, 2007; Rietschel ve diğerleri, 1994). Toksik kısmı olan lipid A, bağışıklık sisteminin aktivasyonu yoluyla inflamatuvar bir tepkiye neden olmaktadır (Van

Amersfoort ve diğeri, 2003). Bu açıdan LPS'nin lipit A bileşenine endotoksin de denilmektedir (Raetz ve Whitfield, 2002). LPS'nin hazırlanması ve saflaştırılması, LPS preparasyonlarındaki diğeri bileşenlerin (proteinler, RNA) miktarının değişmesinden dolayı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda inflamatuvar yanıtı etkileyebilmektedir. Bu çeşitlilik, konakçının farklı bir tepki vermesine veya sinyal iletim mekanizmalarındaki farklılıklara yol açabilmektedir (Dogan ve diğeri, 2000; Rutledge ve diğeri, 2012; Zanoni ve diğeri, 2012).

Sığır ve buzağılarda LPS, endotoksemi ve Gram-negatif sepsis gibi önemli klinik durumların sorumlusu olarak kabul edilmektedir (Cullor, 1992; Olson ve diğeri, 1995). Özellikle buzağılarda Gram-negatif bakteriler, neonatal ishal ve sığır solunum yolu hastalıkları gibi sık görülen ve ekonomik açıdan önemli buzağı hastalıklarında önemli bir rol oynamaktadır (Michaels ve Banks, 1988; Pardon ve diğeri, 2012). Bu bakımdan *E. coli*, *Mannheimia haemolytica* ve *Pasteurella multocida* en sık karşılaşılan patojenlerdir (Constable, 2004; Harper ve diğeri, 2011).

LPS uygulamasına verilen yanıt farklı türlerde sepsis modeli olarak sıkça kullanılmaktadır ve septik hastalıklarda gözlenen başlangıç inflamatuvar yanıtına benzer kısa süreli ve kontrollü bir sistemik inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır (Bahador ve Cross, 2007). LPS, sürekli intravenöz infüzyon veya intravenöz bolus, intraperitoneal veya intratrakeal olarak uygulanabilmektedir. LPS yapısındaki endotoksinlerin uygulanması ile oluşturulan deneysel endotoksemi modelleri, inflamatuvar süreçleri ve endotoksemiyle ilişkili belirgin olmayan bulguları anlamak, tedavi yaklaşımlarını geliştirmek amacıyla ülkemizdeki araştırmacılar tarafından da başarıyla kullanılmıştır (Elmas ve diğeri, 2013; Şen ve Coşkun, 2008; Yılmaz ve diğeri, 2013).

Sığırlarda akut faz yanıtı incelemek için çeşitli deneysel modeller bildirilmiştir. LPS'nin intravenöz kullanımı en yaygın uygulama şeklidir. *E. coli* LPS, genel olarak inflamatuvar yanıtın indüklenmesi açısından en sık uygulanan endotoksin türüdür. O55:B5 ve O111:B4 serotipleri, çalışmalar sırasında sıklıkla kullanılan serotiplerdir. Buzağılarda intravenöz uygulanan *E. coli* LPS dozları, O55:B5 ve O111:B4 serotipleri için sırasıyla 0.01-20 µg/kg ve 0.1-2.5 µg/kg arasında değişmektedir (Plessers ve diğeri, 2015).

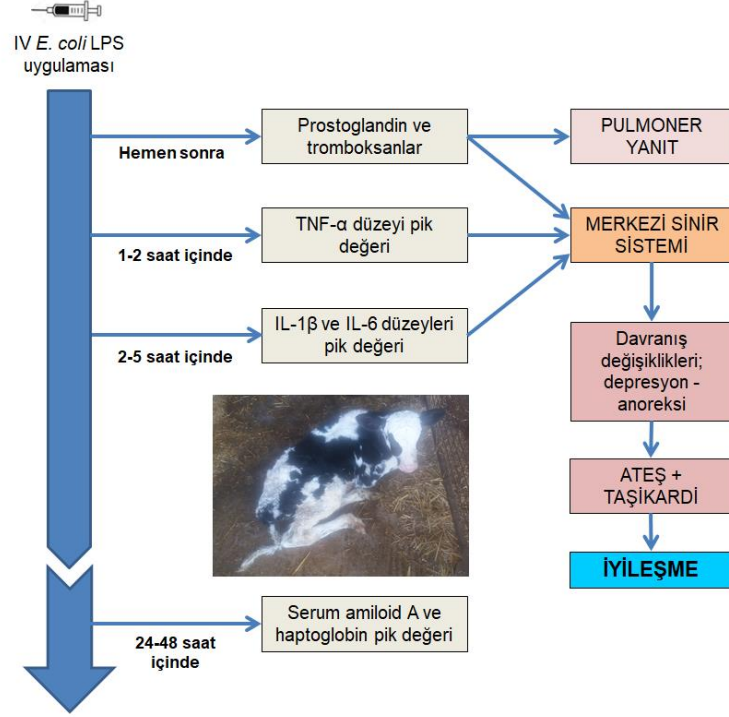
Sığırlarda intravenöz endotoksin uygulamasının ardından LPS'nin plazmadan 15 dakika içinde temizlendiği gözlemlenmiştir (Ohtsuka ve diğeri, 1997; Redl ve diğeri, 1993; Van Deventer ve diğeri, 1990). LPS uygulaması monositler, doku makrofajları ve

polimorfonükleer lökositler dahil olmak üzere doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin aktivasyonu ile sonuçlanır. Uygulama sonrası, tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$ , interlökin (IL)-1 ve IL-6 gibi pro-inflamatuar sitokinler ve prostaglandinler dahil olmak üzere diğer inflamatuvar araçlar salgılanmaktadır. Bunun sonucunda akut faz yanıtını tetiklenmektedir (Werling ve diğerleri, 1996).

Akut faz yanıtı inflamatuvar mediatörün salınımıyla başlamaktadır. TNF- $\alpha$ 'nın, Gram-negatif bakterilere karşı akut inflamasyonun temel aracısı olduğu düşünülmektedir (Conti ve diğerleri, 2004). Yapılan çalışmalarda TNF- $\alpha$  plazma konsantrasyon-zaman eğrisinin 1 saat içinde hızlı bir artış gösterip tepe noktasına ulaştığı, 4 saat sonra neredeyse tamamen normale döndüğü görülmüştür (Kinsbergen ve diğerleri, 1994; Plessers ve diğerleri, 2015), ancak diğer çalışmalar maksimum düzeylerin 2 saat sonra görüldüğünü bildirmiştir (Bieniek ve diğerleri, 1998; Kushibiki ve diğerleri, 2008). IL-1 $\beta$  ve IL-6 ile ilgili analizler daha az sıklıkta gerçekleştirilmekle birlikte ve maksimum sitokin seviyelerine, TNF-a'nın zirvesinden 1-4 saat sonra ulaşılmıştır. Bununla birlikte, sitokin tayini için farklı analitik tekniklerin farklı sonuçlar verebileceği bilinmektedir (Plessers ve diğerleri, 2015). Bahsedilen proinflamatuvar sitokinler, akut faz proteinlerinin karaciğer sentezine katkıda bulunmaktadır. Sığırlarda en çok değerlendirilen akut faz proteinleri Serum Amiloid A (SAA) ve Haptoglobin (Hp) 'dir (Ceciliani ve diğerleri, 2012). Sığırlarda LPS'nin intravenöz uygulanmasının ardından hem SAA hem de Hp plazma konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir. Bu proteinlerin plazma konsantrasyonları genellikle akut faz yanıtı sırasında 10-100 kat artmaktadır (Cray ve diğerleri, 2009).

Klinik olarak, akut faz yanıtı ise ateş, taşikardi ve depresyon, iştahsızlık ve aşırı ağrı duyarlılığı gibi davranış değişiklikleri ile karakterizedir (Alsemgeest ve diğerleri, 1994; Borderas ve diğerleri, 2008; Canning ve Baker, 1990; Van Miert, 1995; Watkins ve diğerleri, 1994; Paape ve diğerleri, 2002; Zebeli ve diğerleri, 2010). Akut faz yanıtı, organizmayı normal fonksiyonuna döndürme açısından önem arz etmekle birlikte, reaksiyon düzensiz veya aşırı hale geldiğinde sepsis ve septik şok gibi hayatı tehdit eden sendromlara neden olabilmektedir (Baumann ve Gauldie, 1994; Carroll ve diğerleri, 2009; Peri ve diğerleri, 2010).

Buzağılarda intravenöz *E. coli* LPS uygulamasından sonra yangısal mediyatörler ve klinik bulgularda gözlenen yaygın değişiklikler Şekil 1'de sunulmuştur.



**Şekil 1.** İntravenöz *E. coli* LPS uygulamasından sonra inflamatuvar yanıt ve klinik bulgular (Plessers ve diğerleri, 2015).

### 2.3. Sağlıklı Gastrointestinal Fonksiyon

Son birkaç yıldır, "bağırsak sağlığı" kavramı beslenme uzmanları, beşeri ve veteriner hekimler arasında büyük ilgi görmektedir. Bağırsak sağlığının tanımı "mikrobiyomun ve gastrointestinal kanalın simbiyotik dengede bulunduğu ve hayvanın refahı ve sağlığının bağırsak disfonksiyonu tarafından bozulmadığı durum" olarak tanımlanmaktadır. Tüm bu bileşenler gastrointestinal sistem fizyolojisi, hayvan sağlığı ve refahında kritik bir rol oynamaktadır (Celi ve diğerleri, 2017).

Gastrointestinal fonksiyonun tamamının tanımlanması zor olmakla birlikte son zamanlarda gastrointestinal fonksiyon ile ilgili dört ana başlık önerilmiştir. Bu alanlar arasında, etkili sindirim ve emilim, sağlıklı ve stabil mikrobiyota, immün sistem ve bağırsak mukozası, bağırsağın nöroendokrin ve motor fonksiyonu bulunmaktadır (Celi ve diğerleri, 2017).

### 2.3.1. Sindirim ve Emilim

Gastrointestinal sisteminin temel işlevi, alınan besinlerin sindirilmesi ve emilmesidir. Fizyolojik olarak sindirim, ağız boşluğunda başlamaktadır, daha sonra mide asidi ve çeşitli endojen ve eksojen enzimlerin etkisiyle gastrointestinal sistemin çeşitli bölümlerinde devam etmektedir. Alınan besin, makro (proteinler, karbonhidratlar ve yağlar) ve mikro besinler (vitaminler ve mineraller) olmak üzere parçalanmakta daha sonra çeşitli fiziksel ve biyokimyasal işlemlerle emilimi gerçekleştirmektedir (Celi ve diğerleri, 2017).

### 2.3.2. Mikrobiyota

Bağırsak mikrobiyotası, mikroorganizmaların gastrointestinal sistem içinde dinamik olarak toplanması ve bu organizmaların birbirleriyle ve konakçı hücreler ile sahip oldukları etkileşim sistemi olarak tanımlanabilir. Bağırsak mikrobiyotası, koruyucu fonksiyonlar (bağırsak patojenlerine karşı savunma, reseptör rekabeti, antimikrobiyal faktörlerin üretimi), yapısal fonksiyonlar (gastrointestinal bariyerin korunması, immunoglobulin A indüksiyonu, tight junction bağlantılarının korunması, immun sisteme katkı) ve metabolik fonksiyonlar (sindirilemeyen diyet kalıntısını ve endojen epitelyal kaynaklı mukusu fermente etmek, vitaminleri sentezlemek, bağırsak epitel hücre farklılaşmasını ve çoğalmasını kontrol etmek, iyon emilimi) gibi çeşitli fizyolojik mekanizmalara katkıda bulunmaktadır. Mikrobiyotanın ürettiği metabolitlerin birçoğu aynı zamanda gastrointestinal kanaldaki nöroendokrin hücreleri uyarmakta ve gastrointestinal işlevselliğin endokrin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Blake ve Suchodolski, 2016; Celi ve diğerleri, 2017).

Buzağılarda bağırsak mikrobiyotasının kolonizasyonu, yaşla beraber hızla değişmektedir (Alipour ve diğerleri, 2018). *Escherichia*, *Salmonella*, *Catelliboccus*, *Pseudomonas* ve *Phagocytophilum* geviş getiren hayvanların fetüs dönemlerinde bağırsaklarında kolonize olan başlıca bakterilerdir. Doğum sonrası süreçte bağırsak bakterilerinin esas olarak *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* ve az sayıda *Actinomycetes*'ten oluştuğu belirtilmektedir (Arshad ve diğerleri, 2021; Du ve diğerleri, 2023).

Yeni doğmuş buzağılar, rumenlerinin hala gelişim halinde olması nedeniyle pseudo-monogastrik canlılar olarak kabul edilmektedir fakat erişkin sığırların, gastrointestinal sistemlerinin farklı bölgelerinde mikrobiyal yapıda önemli farklılıklar bulunmaktadır. Midede *Prevotella* ve *Fibrobacter*, kalın bağırsakta *Bacteroides*, *Clostridium*, *Alistipes* ve

*Ruminococcus*, ince bağırsakta ise *E. coli* baskın olarak görülmüştür. Yetişkin ineklerin dışkılarında başlıca bakteriler *Firmicutes* (%63,7), *Proteobacteria* (%18,3), *Bacteroides* (%7,6) ve *Actinomyces* (%6,8) olarak belirlenmiştir (Mao ve diğerleri, 2012; de Oliveira ve diğerleri, 2013; Xie ve diğerleri, 2021).

### **2.3.3. Gastrointestinal Bariyer ve Bağışıklık Sistemi**

Gastrointestinal sistem bariyeri, vasküler endotelyum, epitel hücre ve mukus tabakasından oluşan fiziksel bir bariyer ile sindirim salgıları, immun moleküller, sitokinler, inflamatuvar araçlar ve antimikrobiyal peptitlerden oluşan fonksiyonel bir immünolojik bariyerden oluşmaktadır. Bağırsak, dış çevre ve mikroorganizmalarla sürekli temas halindedir (Celi ve diğerleri, 2017; Puleo ve diğerleri, 2011).

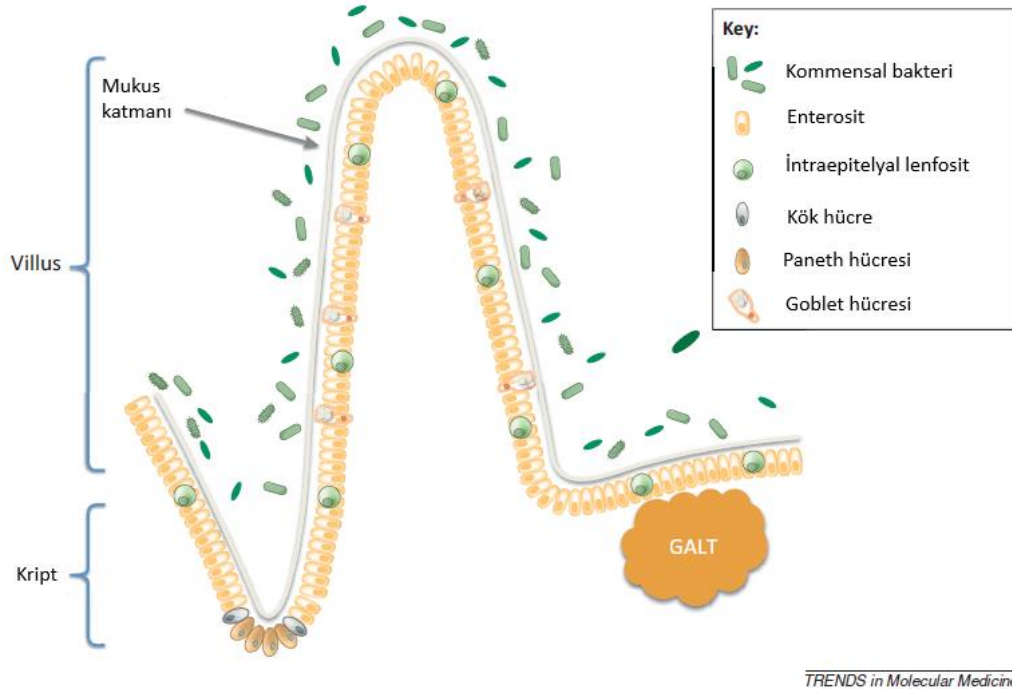
Villuslar, ince bağırsak bağırsak emilim fonksiyonuna katılan enterositlerle kaplanmıştır. Enterositler kriptten köken alır ve daha sonra villüs boyunca sabit bir hızda ilerleyerek villüsün tepe noktasına ulaşırlar. Göçleri sırasında enterositler olgunlaşır ve emilim fonksiyonları için gerekli enzimleri eksprese eder. Villüsün tepe noktasında bulunan olgun enterositler, programlanmış apoptozis mekanizmasıyla bağırsak lümenine dökülür. Enterosit bütünlüğü, bağırsak bariyer fonksiyonu için bir gereklidir, enterositler lümen içeriğine karşı bir bariyer görevi görmektedir. Transsellüler ve parasellüler geçirgenliğin kontrolü için enterosit bütünlüğü önem arz etmektedir (Piton ve Capellier, 2016).

Bağırsakla ilişkili lenfoid doku (Gut associated lymphoid tissues, GALT) vücuttaki en büyük lenfoid sistemdir ve ince bağırsakta Peyer plakları, lenfoid foliküller, mezenterik lenf nodu ve mukozanın lamina propriasından oluşmaktadır. Lamina propria içinde dendritik hücreler, mezenterik lenf nodlarında T hücrelerine antijen sunan hücreler olarak görev alırken, makrofajlar bakteriyel fagositoz gerçekleştirmektedir ve lokal immüneyi korumak için sitokin salgılamaktadır (Krentz ve Allen, 2017). Lamina propriyanın plazma hücreleri, bakteriyel adezyonu sağlamakta ve immunoglobulin A salgılamaktadır. Peyer plakları, bağırsak lümeninden antijenlerle temas eden ve bağırsak immun sisteminin indükleyici kolu olarak işlev gören lenfoid foliküllerdir (Allenspach, 2011).

Mukus tabakası, bir iç tabaka, bir epitel yüzey tabakası (fosfolipidler, mukoza tabakası ve epitel hücreleri), alt epitel bağ dokusu ve kılcak endotelyumdan oluşmaktadır (Faderl ve diğerleri, 2015). Bağırsak peristaltizmi ile birleştiğinde mukus üretimi bakteriyel adezyon

kabiliyetini sınırlarken tight junctionlar (TJ) parasellüler bakteri hareketini sınırlamaktadır (Yandrapu ve Sarosiek, 2015). Mukozanın bir diğer işlevi mukozayla ilişkili lenfoid dokuya (Mucosa associated lymphoid tissue, MALT) sahip olmasıdır. MALT sadece bağırsakta değil, aynı zamanda nazofarenks, tükürük bezi, larinks, bronş ve ürogenital dokular gibi bir dizi başka yerde de bulunmuştur (Haussner ve diğerleri, 2019).

Gastrointestinal bariyer ve GALT Şekil 2’de şematik olarak gösterilmiştir.



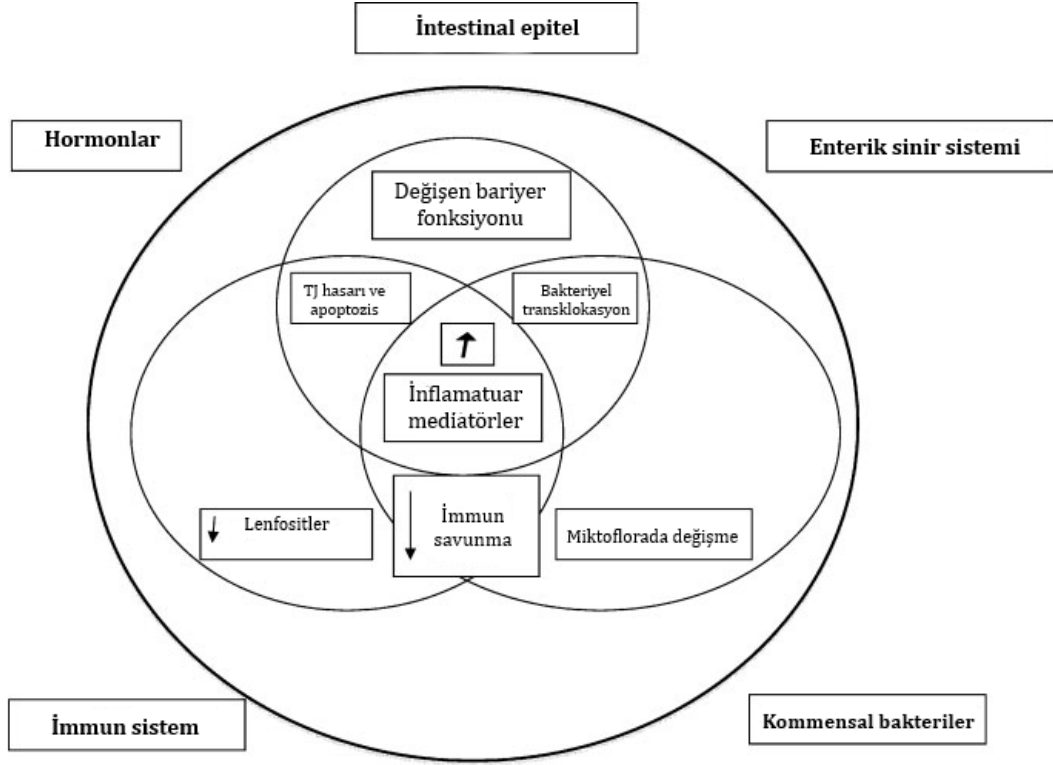
Şekil 2. Gastrointestinal bariyer (Mittal ve Coopersmith, 2014).

### 2.3.4. Bağırsağın Nöroendokrin ve Motor Fonksiyonu

Bağırsak gıda alımına yanıt olarak beyin dahil diğer birkaç organla iletişim kurmaktadır. Sindirim sırasında lümendeki içerik algılanır ve yanıt olarak nöroendokrin sinyaller beyne iletilir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, bağırsak mikrobiyomu ile beyin arasında bağışıklık ve sinir sinyalleri yoluyla kapsamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu durum bağırsak mikrobiyomunun bilişsel işlev ve davranışta rol oynayabileceği düşüncesine yol açmıştır. Gastrointestinal sistemin nöroendokrin işlevi, hayvan refahı ve performansında kritik bir rol oynayan "bağırsak-beyin eksenini" olarak adlandırılan temel iletişim mekanizmaları olarak düşünülebilir (Carabotti ve diğerleri, 2015; Holzer ve Farzi, 2014).



İntestinal epitel, immun sistem, kommensal bakteriler, enterik sinir sistemi ve hormonlar arasındaki ilişki Şekil 3’te özetlenmiştir.



**Şekil 3.** İntestinal epitel, immun sistem, kommensal bakteriler, enterik sinir sistemi ve hormonlar arasındaki ilişki (Puleo ve diğerleri, 2011).

#### 2.4. Sepsiste ve Endotoksemide İntestinal Disfonksiyon

Sepsis bağırsak hareketliliğini ve geçişini değiştirerek, mukozal bariyer bütünlüğünü, sıvı-elektrolit ve besinlerin emilimini, immünolojik aktiviteyi ve endokrin işlevi bozarak gastrointestinal fonksiyonun aksamasına neden olmaktadır (Hill, 2013). Gastrointestinal disfonksiyon, sepsis ve MODS’a eşlik edebilmektedir (Hackett, 2011).

Sepsis ile seyreden kritik hastalıklar, inflamatuvar hücrelerin uyarılmasına ve proinflamatuvar yanıtın oluşmasına sebep olmaktadır. Bağırsak bariyer disfonksiyonu, mukozal perfüzyonda bozulma, mukozal geçirgenlikte artış, doku ödemi, bakteriyel translokasyon ve bağırsak mikrobiyomunda değişim ile karakterizedir. Gastrointestinal disfonksiyon sepsis gelişiminin hem sonucu hem de nedeni olarak düşünülmektedir (Haussner ve diğerleri, 2019).

Gastrointestinal disfonksiyon ile ilgili temel kavramlar aşağıda dört ana başlık altında özetlenmiştir.

#### 2.4.1. Dismotilite

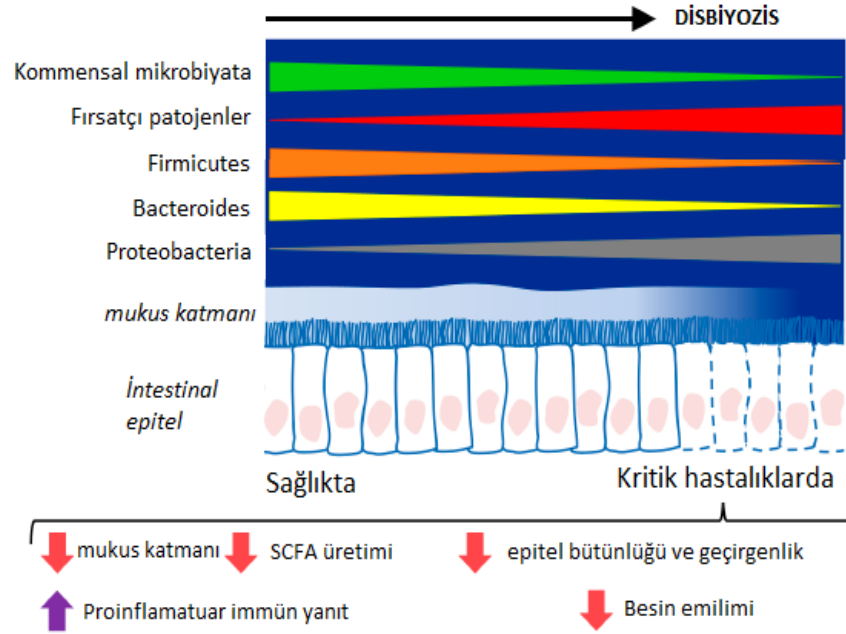
Bağırsaktaki motor fonksiyon, koordineli düz kas peristaltik hareketini sağlayan merkezi ve enterik nöro-endokrin sistemin kontrolü altındadır. Dismotilite hem primer hem de sekonder gastrointestinal hastalıklardan kaynaklanabilmektedir. Primer gastrointestinal hastalıklar ve mide lezyonları arasında inflamatuvar durumlar (inflamatuvar bağırsak hastalığı), gastrointestinal ülserasyon, enfeksiyöz hastalıklar (gastrointestinal parazitler ve bakteriyel, viral enfeksiyonlar), postoperatif abdominal cerrahi, midede neoplazi yer almaktadır. Sekonder hastalıklar ise stres, iç organlardaki enflamatuvar durumlar (pankreatit, peritonit), elektrolit düzensizlikleri, metabolik bozukluklar (asidoz, hipoadrenokortisizm, hepatik ensefalopati, üremi), ilaçlar, diyabetik gastropati, splanknik hipoperfüzyon, hipoksemi, obezite, SIRS veya sepsis ve neoplazi olarak tanımlanmıştır (Whitehead ve diğerleri, 2016). Buzağılarda abomasal hipomotilite, asit-baz dengesi bozuklukları, hipokalsemi, endotoksemi, sepsis hiperinsülinemi ve hiperglisemi ile ilişkili durumlarda şekillenebilmektedir (Witteck ve diğerleri, 2005).

#### 2.4.2. Disbiyozis

Disbiyozis, yararlı bakterilerin sayısında bir azalma (örn. *Bacteroides* ve *Fusobacterium* gibi anaeroblar) ve patojenik bakterilerde (örn. *Enterococcus*, *Staphylococcus* ve *E. coli*) artışın olduğu mikrobiyota kompozisyonundaki kaymadır. Konakçıda bulunan kommensal mikroflora ve mikrobiyota, besin kaynakları ve epitel bariyerine yapışma alanları için doğrudan rekabet yoluyla patojenik bakterilere karşı koruma sağlamaktadır. Komponentler ayrıca, laktik asit, kısa zincirli yağ asitleri ve patojenik bakterilerin büyümesini sınırlayan bakteriyosinler gibi antimikrobiyal faktörler üretmektedir (Fay ve diğerleri, 2017; Krentz ve Allen, 2017).

Bağırsak duvarının hipoperfüzyonu, reperfüzyonu ve mukozal enflamasyon bağırsak florasında değişikliklere yol açmaktadır (Dickson, 2016). Artan nitrat konsantrasyonları ve değişen mukozal oksijen gradyan, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli* gibi gram negatif rodların ve *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus* gibi *Firmicutes* bazı bakterilerin çoğalmasını kolaylaştırmaktadır (Lupp ve diğerleri, 2007; Honda ve Littman, 2012). Uygulanan ilaçlar ve yapılan her müdahale (enteral beslenme, proton pompası inhibitörleri, sistemik

katekolaminler ve sistemik antibiyotikler) bağırsak ortamını kommensal bakteriler için elverişsiz hale getirmektedir (Fay ve diğerleri, 2017; Jacobs ve diğerleri, 2017). Disbiyozis şematik olarak Şekil 4’te özetlenmiştir.



**Şekil 4.** Sağlıkta ve sepsisle seyreden kritik hastalıklarda bağırsak mikro ortamı (Moron ve diğerleri, 2019).

### 2.4.3. Bariyer Disfonksiyonu

Bağırsak bariyeri disfonksiyonu dört mekanizma ile ilişkilendirilmiştir; enterosit bütünlüğünün kaybı; parasellüler geçirgenliğin artması; mukus tabakasının hasar görmesi ve mukozal immunitenin azalması (Clark ve Coopersmith, 2007; Deitch, 1992; Doig ve diğerleri, 1998). Enterosit bütünlüğünün kaybı, bağırsak bariyer disfonksiyonunun temel nedenidir. Bağırsak epitelyumunun yırtılması, bağırsak lümeninden koryon ve dolaşıma hızlı bir şekilde bakteri ve bakteriyel ürünlerin geçişine, bakteriyel translokasyona sebep olmaktadır. İskemi, enterosit hasarının önde gelen nedenlerinden biridir. İskeminin ince bağırsak mukozası üzerindeki genel etkisi, villusun hasar görmesi nedeniyle villus uzunluğunun azalmasıdır (Piton ve Capellier, 2016).

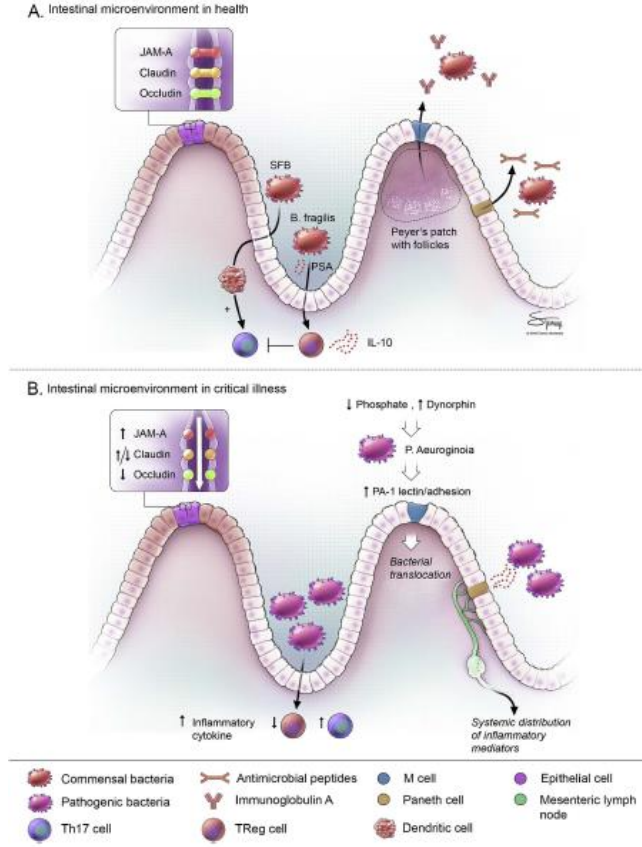
Bağırsaklar, yoğun bir damar ağına ve perfüzyona sahiptir. Bu, dokuya oksijen sağlamanın yanı sıra bağırsaklara kan akışının ve metabolitlerin dokudan taşınmasının sağlanması için gereklidir. Sepsis sırasında hipovolemi ve kardiyak depresyon, sitokinlerin ve

diğer inflamatuvar aracılarn etkisi ile şekillenmektedir. Renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin uyarılması ile vazokonstriktif ajanlar da lokal hipoperfüzyona katkıda bulunmaktadır. Bağırsağa gelen submukozal kan akışında azalma, iskemi ve hipoksiye neden olmaktadır. Splanknik hipoperfüzyon, bağırsağı, dolaşım yoluyla MODS'u indükleyen sitokin üreten bir organa dönüştürmektedir (Haussner ve diğerleri, 2019; Hill, 2019).

#### **2.4.4. Bakteriyel Translokasyon**

Bağırsak epitelyumunda meydana gelen hasar ile bakteriyel translokasyon gerçekleşmektedir. Bakteriyel translokasyon, gastrointestinal sistemde bulunan bakterilerin mezenterik lenf düğümlerine, karaciğere, dalağa ve kan dolaşımına geçişi olarak tanımlanmaktadır (Puleo ve diğerleri, 2011). Sepsis, perfüzyonda azalma ve bağırsağa oksijen iletiminde bozulmaya neden olmaktadır. Hipoperfüzyon, mukozal asidozla sonuçlanan hipoksiye neden olmaktadır (Lardner, 2001). Asidoz, reaktif oksijen türlerinin üretimi ile artan mukozal geçirgenliğe yol açarak, enterositlerin bazal membrandan ayrılmasına ve apoptozise neden olmaktadır (Chang ve diğerleri, 2005). İskemi / reperfüzyon hasarı nedeniyle ortaya çıkan mukozal hasar, bağırsak bariyer disfonksiyonuna yol açarak bakterilerin, endotoksinlerin ve sitokinlerin sistemik dolaşıma translokasyonuna neden olmaktadır (Macintire ve Bellhorn, 2002). Hasarlı gastrointestinal mukozadan endotoksinlerin veya bakterilerin translokasyonunun sonucunda, sitokinlerin üretilip sistemik dolaşıma salındığı bir durum şekillenmektedir. TNF-a, IL-6 ve IL-1B dahil olmak üzere bu sitokinler, hemodinamik dengesizliğe ve doku hasarına neden olmaktadır (Macintire ve Bellhorn, 2002).

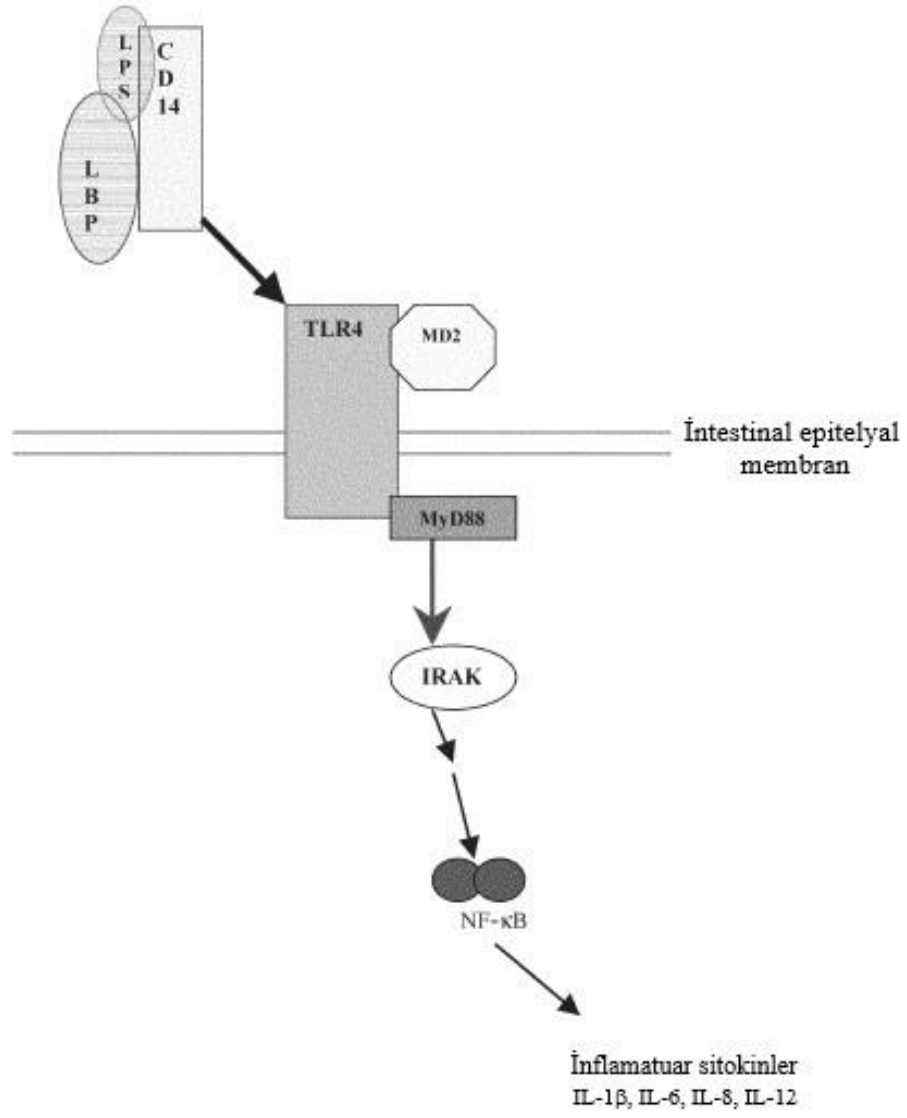
Sağlıkta ve sepsis ile seyreden kritik hastalıklarda bağırsak ortamı ile bakteriyel translokasyon Şekil 5'te özetlenmiştir.



**Şekil 5.** Sağlıkta ve kritik hastalıkta bağırsak ortamı (Fay ve diğerleri, 2017).

LPS, hayvanlarda sistemik inflamasyonu indüklemek ve immun yanıtı arttırmak için kullanılmış olup yapılan çalışmalarda, farklı türlerde, intestinal permeabilitenin artmasına neden olduğu görülmüştür. Fareler, ratlar, domuzlar ve insanlar üzerinde yapılmış çalışmalar Tablo 1’de özetlenmiştir.

LPS’nin, makrofajlar üzerindeki LPS bağlayıcı protein (LBP) ve Başkalaşım kümesi 14 (CD14) proteinleri tarafından tanınması sonucunda Toll benzeri reseptörleri (TLR) -2 ve TLR-4 aktive olmaktadır. Myeloid diferansiyasyon protein (MyD88), TLR4’ün hücresel iç kısmına bağlanır ve interleukin-1 reseptör ilişkili kinaz (IRAK), proinflamatuvar sitokinlerin gen transkripsiyonunu kontrol eden bir protein olan nükleer faktör (NF) -kB’yi aktive eder. NF-kB, bir inflamatuvar yanıtı uyarmaktadır ve immün aktivasyona yanıt olarak üretilen TNF-a, IL-1 $\beta$  ve IL-6, IL-8 ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinler bağırsak geçirgenliğini arttırmaktadır (Şekil 6) (Tomlinson ve Blikslager, 2004; Gilani ve diğerleri, 2016). TNF-a ve NF-kb2 eksikliği bulunan farelerde LPS'nin bağırsak geçirgenliğini değiştirmediği görülmüştür (Williams ve diğerleri, 2013).



**Şekil 6.** LPS ile bağırsak epitelyal hücreler arasındaki etkileşim (Tomlinson ve Blikslager, 2004). LBP, LPS bağlayıcı protein; TLR, toll benzeri reseptör, MyD88, myeloid diferansiyasyon protein; IRAK, interleukin-1 reseptör ilişkili kinaz; NF, nükleer faktör.

**Tablo 1.** LPS uygulaması sonrası intestinal geçirgenliğin değerlendirildiği çalışmalar.

Hayvan türü	LPS uygulama yolu ve dozu	Bakteri ve suş	Ölçülen parametreler	Kaynak
<b>Fare</b>	İntraperitoneal, 0,1 mg/kg, 5 kere	<i>E. coli</i> O111:B4	Su Absorpsiyon kapasitesi ve TEER (Trans-epitelyal Elektrik Direnci)	Guo ve diğerleri (2013)
<b>Rat</b>	İntraperitoneal, 1 mg/kg	-	Zonula okludens (western blot), Bağırsak morfolojisi, villus yüksekliği, idrarda laktoz/mannitol	Ruan ve diğerleri (2014)
<b>Domuz</b>	İntraveöz, 5 mg/kg	<i>E. coli</i> K-235	TEER ↓	Albin ve diğerleri (2007)
<b>Domuz</b>	İntraveöz, 1 saat süreyle infüzyon	<i>E. coli</i> O111:B4	Western blot ile Zonula Okludens, Kript derinliği, İntestinal İnflamasyon	Klunker ve diğerleri (2013)
<b>Domuz</b>	İntraperitoneal, 200 mg/kg	<i>E. coli</i> O55:B5	ZO-1 mRNA'nın aşağı regülasyonu	Zhu diğerleri (2015)
<b>Domuz</b>	İntraperitoneal, 100 µg /kg	<i>E. coli</i> O55:B5	Artan plazma diamin oksidaz aktivitesi, okludin ve claudin-1 gen ekspresyonunda azalma	Liu ve diğerleri (2012)
<b>Domuz</b>	Oral	<i>E. coli</i> K88	Plazma ve jejunal endotoksin, diamin peroksidaz (DAO), d-laktat ve zonulin konsantrasyonu (ELISA) ↑, ZO-1 ve okludin gen ekspresyonu ↓	Xiong ve diğerleri (2020)
<b>İnsan</b>	İntravenöz, 2ng/kg	<i>E. coli</i> O:113	İdrar polietilen glikol testi ↑ iFABP düzeyi	Hietbrink ve diğerleri (2009)
<b>İnsan</b>	İntravenöz, 4 ng/kg	<i>E. coli</i>	Laktuloz ve mannitol testi	O'Dwyer ve diğerleri (1988)

↓: Azalma, ↑: Artış

## 2.5. İntestinal Disfonksiyonun Tanısı

Gastrointestinal disfonksiyonun tanı ve takibi için belirlenen bir prosedür olmaması nedeniyle, hastalığın seyri de dahil olmak üzere farklı yönleri dikkate alan sistematik bir yaklaşımın uygulanması gerekmektedir.

Klinik değerlendirme kapsamında yapılan abdominal muayene, abdomenin palpasyonu ve oskültasyonu, mide içeriğinin ve dışkının, beslenme intoleransının değerlendirilmesi, sonraki tanı yöntemlerinin seçiminde ve tedavide klinisyene rehberlik etmelidir. Klinik değerlendirmenin ötesinde gastrointestinal işlevi değerlendirmek için alternatif ve gelişmiş yöntemlerden faydalanılmalıdır (Moonen ve diğerleri, 2018).

Deneysel ve klinik çalışmalar, farklı biyobelirteçlerin plazma seviyelerinin, gastrointestinal fonksiyonunun çeşitli yönlerini yansıtabileceğini göstermiştir. Gastrointestinal sistemin birçok fonksiyonu bulunması ve bunların birbiri ile etkileşim halinde olması nedeniyle, tek bir biyobelirteç gastrointestinal disfonksiyonu belirlemede yeterli olmamaktadır (Celi ve diğerleri, 2017).

## 2.6. İntestinal Biyobelirteçler

Gastrointestinal disfonksiyonun değerlendirilmesi için basit, pratik ve objektif bir yöntemin bulunmaması durumun yönetimini ve erken tanıyı zorlaştırmaktadır. Son yıllarda beşeri ve veteriner hekimlikte enterosit hasarının ve işlev bozukluğunun tanımlanmasında biyobelirteçler kullanılmaya başlamıştır (Celi ve diğerleri, 2017).

Aşağıda bu tez çalışması kapsamında değerlendirilen biyobelirteçler ile ilgili genel bilgiler özetlenmiştir.

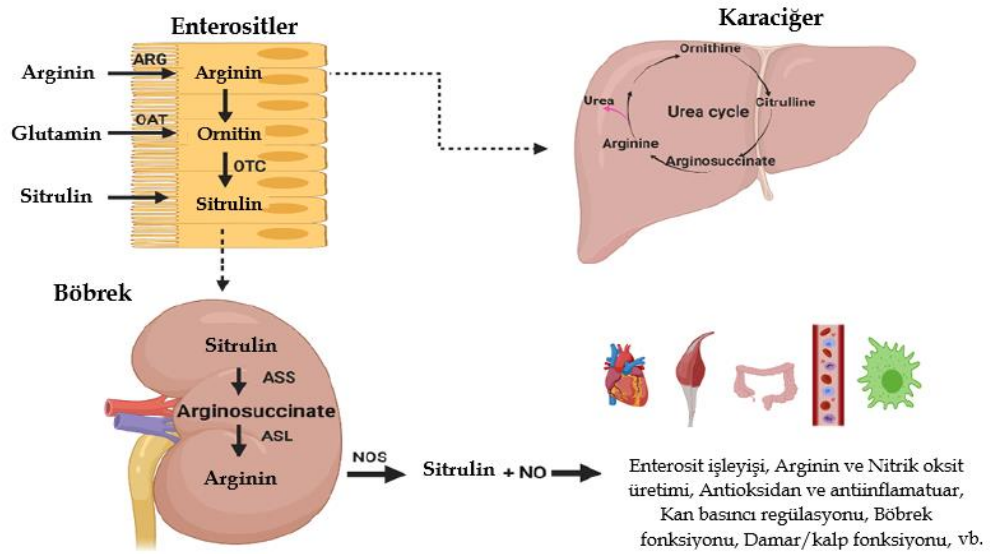
### 2.6.1. Sitrulin

Sitrulin, ismini latince karpuz anlamına gelen *Citrullus vulgaris*'ten almaktadır. Sitrulin hem glutamin hem de arjininin bir aracı olarak üre döngüsünde yer alan, esansiyel olmayan bir amino asittir. Hepatik metabolizmada önemli olmasına rağmen, net üretimi neredeyse yalnızca ince bağırsakta gerçekleşmektedir. Bağırsakta sitrulin üretimi genellikle proksimal ince bağırsakta bulunan bağırsak villuslarının orta ve üst bölgelerinde gerçekleşir (Crenn ve



diğerleri, 2008). Sitrulin, enterositlerden salındıktan sonra karaciğerde önemli bir metabolik işleme tabi tutulmadan sistemik dolaşıma ulaşır, böbrekler proksimal tübüler hücrelerinde arginosüksinat sentaz ve arginosüksinat liaz enzimleri tarafından arjinine dönüştürülmektedir (Wu ve diğerleri, 2007). Bu nedenle bazı çalışmalarda, böbrek yetmezliği dolaşımdaki yüksek sitrulin düzeyleriyle ilişkilendirilmiştir (Chuang ve diğerleri, 2006; Lau ve diğerleri, 2000).

Sitrulin, ince bağırsak enterositleri tarafından üretilip kan dolaşımına salınmaktadır; bu durum, sitrulinin kandaki seviyelerinin, bağırsak epitel hücrelerinin işlevini ve kütlesini yansıtabileceği fikrini desteklemektedir (Flam ve diğerleri, 2007). Plazma sitrulin konsantrasyonunun, sitrulinin enterositler tarafından sentezi ile sitrulinin böbreklerde arjinine dönüşümü arasındaki dengeyi yansıttığı varsayılmaktadır. Normal böbrek fonksiyonuna sahip hastalarda plazma sitrulin konsantrasyonundaki azalmanın, enterositler tarafından sitrulin sentezindeki azalmaya bağlı olduğu belirtilmiştir (Blaser ve diğerleri, 2019).



**Şekil 7.** Sitrulin metabolizması. ARG, arginaz; OAT, ornitin aminotransferaz; OTC, ornitin karbamoiltransferaz; ASS, Arjininosüksinat sentetaz; ASL, arjininosüksinat liyaz (Uyanga ve diğerleri, 2021).

Çalışmalar, düşük sitrulin seviyelerinin bağırsak fonksiyon bozukluğunun klinik belirtileriyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Blaser ve diğerleri, 2019; Fagoni ve diğerleri, 2020; Noordally ve diğerleri, 2012; Shen ve diğerleri, 2015). Gastrointestinal problemleri olan hastalarda yapılan çalışmalarda, plazma sitrulin düzeylerinin kısa bağırsak sendromlu

hastalarda bağırsak uzunluğuyla ve Crohn veya çölyak hastalığı gibi enteropatilerde hastalığın şiddetiyle ilişkili olduğunu görülmüştür (Crenn ve diğerleri, 2000, Crenn ve diğerleri, 2003; Fragkos ve diğerleri, 2018). Ayrıca, plazma sitrulin düzeylerinin azalması, kript nekrozu, vilus atrofi ve enterosit kaybı gibi patolojik bulgularla korelasyon göstermiştir (Jäckel ve diğerleri, 2020).

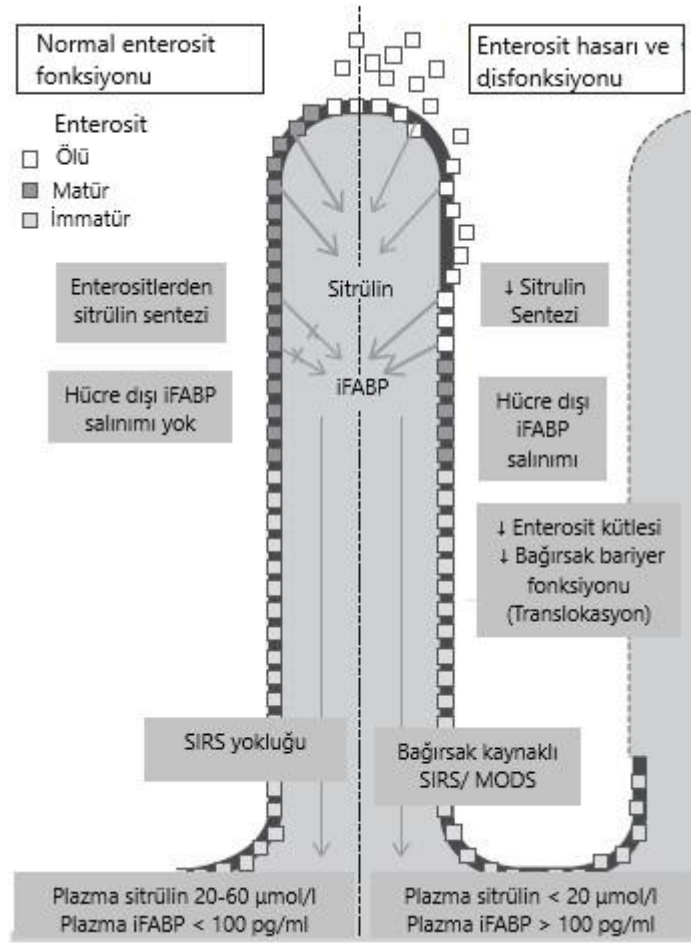
Şiddetli sepsis ve septik şokun da düşük plazma sitrulin konsantrasyonları ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Kao ve diğerleri, 2009, Kao ve diğerleri, 2013; Luiking ve diğerleri, 2009). Sepsis sırasında plazma sitrulin konsantrasyonundaki azalmanın, sepsise bağlı olarak enterosit kütlelerinde azalmayı yansıttığı düşünülmektedir (Shen ve diğerleri, 2015). Bu çalışmalar, düşük plazma sitrulin seviyesinin, bağırsak bariyer fonksiyonunun kaybı ve bakteriyel translokasyon riski taşıyan hastaları tanımlayabileceği görüşünü desteklemektedir (Piton ve Capellier, 2016).

Köpeklerde ve sıçanlarda dolaşımdaki sitrulin seviyeleri de bağırsak patolojilerinde değerlendirilmiştir (Gerou-Ferriani ve diğerleri, 2018; Shin ve diğerleri, 2019; Sacoor ve diğerleri, 2020; Jäckel ve diğerleri, 2021). Köpeklerde parvoviral enteritiste ve kanin distemper virüsünde akut ince bağırsak hasarının gösterilmesi ve prognostik önemi yönüyle incelenmiştir (Dik ve diğerleri, 2023; Dossin ve diğerleri, 2011). Buzağılarda plazma sitrulin konsantrasyonuna ilişkin sınırlı çalışma gerçekleştirilmiştir (Gultekin ve diğerleri, 2019; Hill ve diğerleri, 2008; Sultana ve diğerleri, 2003).

## **2.6.2. İntestinal Yağ Asidi Bağlayıcı Proteinler**

Villus hasarının biyolojik belirteçleri FABP'lar, yağ asitlerinin alımında ve hücre içi taşınmasında rol oynayan sitozolik proteinlerdir. Olgun enterositler üç izoformu ekspres etmektedir: intestinal FABP (iFABP), ileal safra asidi bağlayıcı protein (iBABP) ve karaciğer FABP (LFABP). Bağırsak, karaciğer ve böbrekler LFABP'ı ekspres ederken, iBABP ileuma spesifiktir. iFABP, iskemik durumlardan ilk etkilenen anatomik bölge olan bağırsak mukozal villusunun uçlarında yer alan enterositler tarafından ekspres edilen 15-kDa çözümlü bir proteindir. iFABP esas olarak duodenum ve jejunumun enterositlerinde ve daha az oranda ileum ve kolonda bulunmaktadır. FABP ailesine ait 8 protein daha keşfedilmiş ve numaralandırılmıştır, iFABP aynı zamanda FABP2 olarak da bilinmektedir (Furuhashi ve Hotamisligil, 2008; Pelters ve diğerleri, 2005).

Normalde koşullarda iFABP, enterositlerin sitoplazmasında bulunmaktadır ve plazmada veya idrarda saptanamamaktadır. Bazal iFABP plazma konsantrasyonları, bağırsak epitelinin fizyolojik devir hızının göstergesi olabilirken, yüksek konsantrasyonlar bağırsak epitel hücre hasarının varlığını gösterebilmektedir (Şekil 8). Düşük moleküler ağırlıklarından dolayı, FABP'lar böbrekler yoluyla değişmeden hızla atılmaktadır (Celi ve diğerleri, 2019; Ockner ve diğerleri, 1974; van de Poll ve diğerleri, 2007).



**Şekil 8.** Normal enterosit fonksiyonu ve bütünlüğünün enterosit hasarı ve disfonksiyonu ile şematik olarak karşılaştırılması. (Piton ve Capellier, 2016).

Bu proteinler, mezenterik iskemi, bağırsak nekrozu ve sepsisi takiben mukozal hasar sonucu kan dolaşımına salınmaktadır. Bu nedenle, iFABP'ın, bağırsak bariyer disfonksiyonunun biyobelirteci olduğuna inanılmaktadır (Kanda ve diğerleri, 2011; Matsumoto ve diğerleri, 2014; Shi ve diğerleri, 2015). iFABP seviyelerindeki artışlar, ağır egzersiz (Edinburgh ve diğerleri, 2018), majör cerrahi (Derikx ve diğerleri, 2008; Zou ve diğerleri, 2018), travma (de Haan ve diğerleri, 2009; Timmermans ve diğerleri, 2015), kardiyak arrest

(Grimaldi ve diğeri, 2013), sepsis (Derikx ve diğeri, 2010), akut mezenterik iskemi (Cronk ve diğeri, 2006) gibi bağırsak iskemisine neden olan durumlarda gösterilmiştir. iFABP'nin plazma seviyesindeki yükselmeler, enterosit hasarıyla ilişkili diğeri durumlarda da gözlemlenmiştir; bunlar arasında çölyak hastalığındaki epitelyal inflamasyon ve villöz atrofi (Adriaanse ve diğeri, 2013; Derikx ve diğeri, 2009), radyoterapi ve kemoterapi sürecinin bağırsağı verdiğı hasarın değerlendirilmesi (Kuiken ve diğeri, 2017; Prattes ve diğeri, 2016) yer almaktadır.

iFABP konsantrasyonu ile bağırsak hasarının ilişkisi rodent ve domuzlarda deneysel çalışmalarla değerlendirilmiş, iFABP düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (He ve diğeri, 2014; Shen ve diğeri, 2015). Veteriner hekimliğinde iFABP, klinik çalışma olarak parvoviral enteritli köpeklerde (Ay ve diğeri, 2022; Eregowda ve diğeri, 2020; Gülersoy ve diğeri, 2020), enterik koronavirüsü ve kedi enfeksiyöz peritonitis'inde (Gülersoy ve diğeri, 2023) ince bağırsak hasarının ortaya koyulması yönüyle incelenmiştir. Ruminantlarda iFABP serum düzeylerinin, atrezia coli (Yıldız ve diğeri, 2018), solunum sıkıntısı sendromu olan prematüre buzağılarda (Yıldız ve diğeri, 2019), Koksidiyozlu (Durgut ve Ok, 2023) ve neonatal ishallerde (Ok ve diğeri, 2020) önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir. Buzağılarda deneysel endotoksemi sürecinde iFABP düzeylerinin değerlendirildiğı bir çalışmaya rastlanamamıştır.

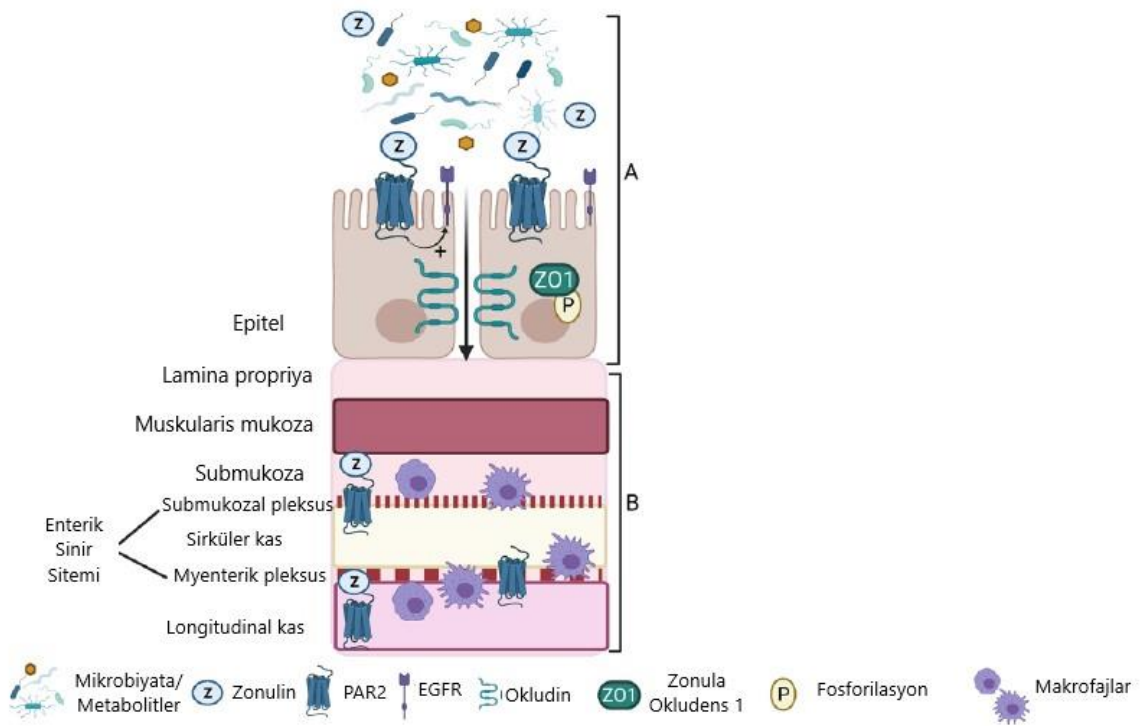
### 2.6.3. Zonulin

Tight junction (TJ)'lar bağırsak epitel hücrelerinin apikal kısmının çevresini saran birkaç şeritten oluşan dar bir bant olarak kabul edilmektedir. TJ'lerin düzgün çalışması, bağırsak kanalındaki normal fizyolojik süreçlerin sürdürülmesi için önem arz etmektedir. (Fink, 2003). TJ'ler okludinler, kladinler, adezyon molekülleri, trikelluin gibi transmembran proteinlerinden ve zonula occludens (ZO) proteinleri ZO-1, -2 ve -3 gibi hücre içi iskele proteinlerinden oluşmaktadır (Celi ve diğeri, 2019).

Zonula-occludens toksini (Zot), *Vibrio cholerae* aşısı arayışı sırasında keşfedilmiştir. *V. cholerae* toksini, bağırsak epitelyal bariyerindeki TJ'leri geri dönüşümlü olarak parçalayarak bağırsak paraselüler geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır (Fasano ve diğeri, 1991, 1995). Daha önce epitelyal bariyer geçirgenliğinin statik olduğuna inanılmakla birlikte Zot'un keşfi, TJ yapısına ve işlevine ilişkin yeni bir anlayışın ortaya çıkmasına katkı sağlamıştır.

Zot'un işlevsel ve yapısal bileşenleri, benzer fizyolojik aktiviteye sahip bir endojen proteinin varlığını öne sürmüştü ve zonulin adı verilen bir karşılığın keşfedilmesine yol açmıştır (Wang ve diğerleri, 2000).

Zonulin, ince bağırsağın epitelindeki bağırsak geçirgenliğini artıran, haptoglobin ailesine ait olan ve prehaptoglobin 2 (Pre-HP 2) olarak adlandırılan, ≈47-kDa'lık bir proteindir (Wang ve diğerleri, 2000). Zonulin hücreler arası TJ'leri modüle ederek intestinal permabiliteyi geri dönüşümlü olarak düzenlemektedir. Zonulinin TJ'lar üzerine etkisi, proteaz-aktive2 reseptörünün (PAR2) aktive edilmesi ve epidermal büyüme faktörü reseptörünün (EGFR) transaktivasyonu aracılığıyla gerçekleşir. PAR2 aktivasyonunun ardından, ZO-1 ve myozin 1-C'nin fosforilasyonu, aktin polimerizasyonu ve okludin yer değiştirmesi gibi olaylar gerçekleşir ve bunlar epitelyal geçirgenliğin artmasına yol açmaktadır (Şekil 9) (Goldblum ve diğerleri, 2011; Tripathi ve diğerleri, 2009).



Şekil 9. Zonulin etki mekanizması (Martinez ve diğerleri, 2022).

İntestinal zonulininin diğer bir fizyolojik rolü, proksimal bağırsağın mikroorganizma kolonizasyonuna karşı korunmasıdır (El Asmar ve diğerleri, 2000). Zonulin salınımı, bağırsakların bakterilere veya gliadine maruz kalmasından sonra meydana gelen inflamasyon sonucunda artmaktadır. Bağırsak dokusunun patojenik ve patojenik olmayan bakterilere maruz

kalması, zonulin yolunun aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (Clemente ve diğerleri, 2003; El Asmar ve diğerleri, 2002).

Yapılan çalışmalarla bağırsak zonulininin gastrointestinal hastalıkların patomekanizmasında önemli bir rol oynadığını kanıtlamıştır (El Asmar ve diğerleri, 2002; Sturgeon ve Fasano, 2016). Mukozal bariyer fonksiyonunda bozulmayla ilişkilendirilen yüksek zonulin seviyeleri, gluten duyarlılığında (Barbaro ve diğerleri, 2020), irritabl bağırsak sendromunda (IBS) (Singh ve diğerleri, 2019), inflamatuvar bağırsak hastalıklarında (IBD) (Caviglia ve diğerleri, 2019; Vanuytsel ve diğerleri, 2013), neonatal sindirim sistemi anormallikleri (Łoniewska ve diğerleri, 2019) ve çevresel enterik disfonksiyon gibi hastalıklarda tanımlanmıştır (El Wakeel ve diğerleri, 2021). Dolaşımdaki plazma zonulinin bağırsak geçirgenliğinin potansiyel belirteci olduğu öne sürülmüştür (Sapone, 2006; Fasano, 2012).

Köpeklerle fekal ve domuzlarda serum zonulin seviyeleri intestinal bariyer bütünlüğünü değerlendirmek için kullanılmıştır (Cheng ve diğerleri, 2018; Meineri ve diğerleri, 2022; Ohlsson ve diğerleri, 2017; Rossi ve diğerleri, 2021; Xiong ve diğerleri, 2019). Farklı hayvan türlerinde deneysel endotoksemi modelleri ile intestinal permabilitenin değerlendirildiği çalışmalarda ZO-1 proteinleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Tablo 1).

Buzağılarda zonulin konsantrasyonunun değerlendirildiği sınırlı çalışmaya ulaşılmıştır. Ülkemizdeki çalışmalarda zonulin düzeyleri ishallerde (Alıc Ural ve diğerleri, 2023; Ural ve diğerleri, 2022;) ve sıcak stresinde (Ural ve diğerleri, 2022) intestinal bariyer fonksiyonunun değerlendirilmesi açısından incelenmiştir.

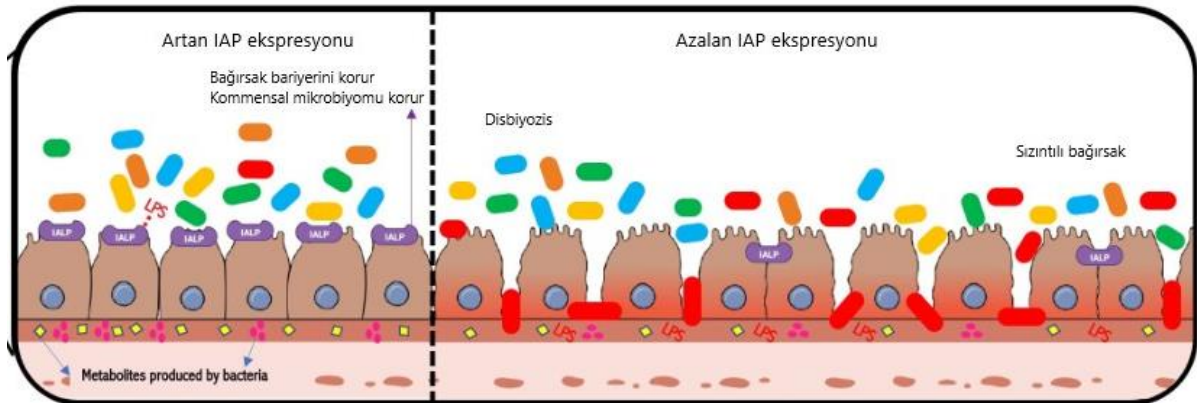
#### **2.6.4. İntestinal Alkalen Fosfataz**

IAP, vücutta farklı dokularda bulunan Alkalen Fosfataz (AP) ailesinin bir üyesidir. AP'lar eksprese edildiği dokuya bağlı olarak dört izoenzime ayrılır: dokuya özgü olmayan AP (TNAP), bağırsak AP (IAP), plasental AP; germ hücresi AP'si (Sharma ve diğerleri, 2014). IAP, bağırsak epitelyal hücrelerinde (enterositlerde) bulunan bir ektoprotein olup, bu enzimin seviyeleri bağırsak boyunca değişiklik göstermektedir. IAP, duodenumda yüksek miktarda bulunmakta ve gastrointestinal sistemin geri kalanında kademeli olarak azalmaktadır. Aktivitesi, villusun ucunda kripte olduğundan daha yüksek olduğundan, IAP, olgun enterositlerin bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Calhau ve diğerleri, 2000; Nakano ve diğerleri, 2009). IAP,

gastrointestinal sistemde lipid emiliminin, duodenal bikarbonat sekresyonunun ve duodenal yüzey pH'nın düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik rollerde yer almaktadır (Celi ve diğerleri, 2019). IAP'nin ekspresyonu, diyetin içeriği ve inflamasyon durumlarında değişmektedir (Lallès, 2010; Lallès, 2014).

IAP'nin fizyolojik işlevlerinin yanında farklı patolojik koşullarda da işlevi bulunmaktadır. Fosforilasyon aktivitesi aracılığıyla, gram-negatif bakterilerden salınan LPS'yi daha az biyolojik etkili monofosforil-LPS'ye çevirerek LPS'yi detoksifiye edebilmektedir. LPS'nin güçlü bir sepsis tetikleyicisi olduğu ve IAP'nin LPS'yi etkisiz hale getirdiği göz önüne alındığında, birçok araştırmacı sepsis tedavisinde IAP'nin sistemik kullanımını araştırmıştır (Chow ve diğerleri, 1999; Goldberg ve diğerleri, 2008; Lu ve diğerleri, 2008). Farelere ölümcül doz LPS verilmesi sonrası plasental AP uygulaması yapılmış, LPS enjeksiyonundan sonraki 6 gün içinde sağkalım oranlarının yükseldiği görülmüştür (Bentala ve diğerleri, 2002). Farelere ölümcül bir *E. coli* dozu ile yapılan başka bir çalışmada, IAP verilenlerin sağkalım oranının arttığı, TNF- $\alpha$  yanıtının baskılandığı görülmüştür (Beumer ve diğerleri, 2003).

Son çalışmalar IAP'ın sağlıklı mikrobiyomun korunmasına ve mukozal toleransın induksiyonuna katkıda bulunduğunu, disbiyozun ve patojenik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların önlenmesinde/tedavisinde terapötik bir potansiyele sahip olabileceğini göstermiştir (Chen ve diğerleri, 2011; Malo ve diğerleri, 2010, 2014). IAP bağırsak fonksiyonunun korunmasının yanı sıra İnflamatuvar bağırsak hastalığı, Nekrotizan enterokolit, obezite, hipertansiyon, insülin direnci, tip 2 diyabet gibi metabolik hastalıkların patofizyolojisinde de rol oynamaktadır (Santos ve diğerleri, 2022).



Şekil 10. IAP'ın koruyucu etkileri (Santos ve diğerleri, 2022).

Endojen IAP uygulamasının bağırsak bariyer fonksiyonunun korunmasındaki rolü TJ proteinlerinin ekspresyonunun düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir. IAP-knockout (intestinal alkalin fosfataz genini taşımayan) farelerden elde edilen fare embriyonik fibroblastları üzerinde yapılan çalışmalarda, zonulin-1, zonulin-2 ve okludin protein düzeylerinin, kontrol hücrelerine kıyasla belirgin şekilde düşük olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, insan kolorektal adenokarsinom Caco-2 ve T84 hücrelerinde IAP'ın aşırı ekspresyonunun zonulin-1 ve zonulin-2 ekspresyonunu belirgin şekilde artırdığı görülmüştür. Bu çalışma, Caco-2 hücrelerine ekzojen IAP uygulamasının, TJ proteinlerinin yerleşiminde LPS tarafından indüklenen değişiklikleri önlediğini ve bağırsak geçirgenliği üzerindeki etkisini iyileştirdiğini göstermiştir (Liu ve diğerleri, 2016).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hayvan Materyali

Bu araştırma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.09.2021 tarih ve 64583101/2021/136 sayılı onayıyla yürütülmüştür.

Çalışmada kullanılan hayvan materyali, 1-4 haftalık yaşları arasında bulunan 6 sağlıklı erkek Holstein ırkı buzağıdan oluşmaktadır. Buzağılar, Aydın ili çevresindeki hastalıktan ari işletme belgesine sahip olan bir çiftlikten temin edildi. Temin öncesinde, buzağuların klinik muayeneleri gerçekleştirildi ve laboratuvar analizleri (hematolojik ve biyokimyasal analizler, hızlı test kitleri ile dışkı analizi) yapıldı. Bu analizler sonucunda sağlıklı oldukları belirlenen buzağular seçildi.

Buzağular, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi içinde, hastane işleyişinden izole, ayrı bir araştırma ünitesinde barındırıldı. Deneysel sürecin sağlıklı takip edilebilmesi için eş zamanlı en fazla iki buzağı ile çalışıldı. Her bir buzağı, bireysel kulübelerde ayrı ayrı barındırıldı, altlıkları günlük olarak temizlendi ve düzenli dezenfeksiyon sağlandı. Buzağular sabah-akşam Veteriner Fakültesi çiftliğinden temin edilen süt ile beslendi, su ve kuru ot *ad libitum* olarak sunuldu.

Buzağular araştırma öncesinde beş gün boyunca adaptasyon için gözlem altında tutuldu, günlük klinik ile hematolojik muayeneleri tekrarlandı. Muayene sonuçlarına göre sağlıklı olduklarına karar verilen buzağular araştırmaya dahil edildi.



**Resim 1.** Buzağuların barındırılma ortamı.



**Resim 2.** Araştırmada kullanılan buzağular.

### 3.2. Klinik Muayene

Araştırma öncesi ve sonrasında buzağuların klinik muayeneleri günde iki defa, araştırma sırasında ise her örnekleme anında gerçekleştirildi (Resim 4). Klinik muayene kapsamında vücudun tutuluşu, deri elastikiyeti, mukoz membranlar, kapillar dolun zamanı, göz küresinin orbita çukurluğundaki konumu, kalp ve solunum frekansı, vücut sıcaklığı, emme refleksi, mental refleks, ayağa kalkabilme durumu, dışkı karakteri değerlendirildi. Buzağuların genel durumunun klinik skorlaması yapıldı (Resim 3) (Coşkun ve Şen, 2012).

#### Klinik Muayene Formu

Tarih:		T:	P:	R:	KDZ:
Buzağı:					
Örnek alınan saat:					

#### Klinik Skorlama

Klinik skor	Solunum	Mukoz membranlar	İştah-emme refleksi	Mental refleks	Ayağa kalkabilme durumu	Dışkı karakteri
5	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
4	Hızlı	Hiperemik	Hafif iştahlı	Hafif refleks kaybı	Ayakta, hafif sallantılı	Saatte 2-3 defa dışkılama
3	Abdominal	Kirli hiperemik	İştah yok	Belirgin refleks kaybı	Ayakta güç durabilme	Hafif yumuşak
2	Şiddetli abdominal	Siyanotik	Zayıf emme refleksi	Hafif bilinç kaybı	Ayağa kalkamıyor	Hafif ishal
1	Dispne	Şiddetli siyanoz, kuru	Emme refleksi yok	Bilinç kaybı	Baş önde veya yanda	İshal, pis kokulu dışkı
0	Asfeksi, ölüm	Şok, ölüm	İlgisiz	Şok, ölüm	Şok-ölüm	Şiddetli ishal

NOTLAR:

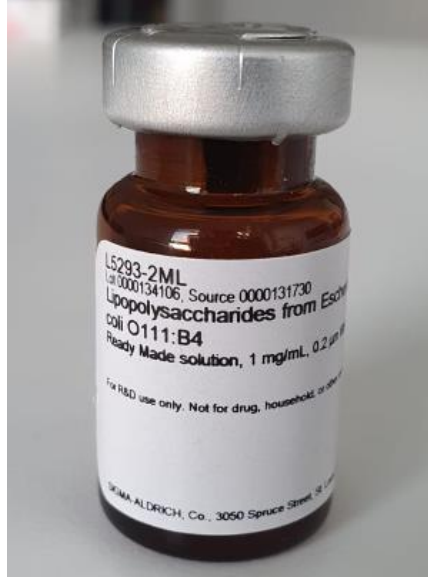
**Resim 3.** Klinik muayene formu.



**Resim 4.** Klinik muayenenin gerçekleştirilmesi.

### **3.3. Endotokseminin Oluşturulması**

Deneysel endotoksemi amacıyla ticari saflaştırılmış referans LPS (*E. coli* 0111:B4; L5293 2ml, Sigma) intravenöz kullanıma hazır çözelti olarak temin edildi (Resim 5). Ticari saflaştırılmış toz formunda standart referans LPS 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dozda, intravenöz yolla, 100 ml %0,9'luk NaCl solüsyonunda çözölerek hazırlandı ve yavaş (5 dakikalık süre içinde) intravenöz yolla tek seferlik olarak uygulandı. Uygulanan endotoksin ile ilgili doz (Carroll ve diğerleri, 2009), suş (Plessers ve diğerleri, 2015), uygulama yolu ve süresi (Yılmaz ve diğerleri, 2013) daha önce buzağılar üzerinde yapılmış çalışmalar göz önüne alınarak belirlendi.



**Resim 5.** Endotoksemi uygulaması için temin edilen kullanıma hazır LPS çözeltisi.

### 3.4. Örneklerin Alınması ve Saklanması

*Vena jugularis*'ten alınan kan örnekleri, serum ve antikoagulan içeren (heparin, EDTA) tüplere alındı. Buzağılarda kan örneklemeleri, uygulama öncesi (0. saat) ve sonrasında 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 ve 48. saatlerde olmak üzere dokuz farklı zamanda gerçekleştirildi.

Tam kan ve kan gazları analizleri, örneklerin alımını takiben 30 dakika içinde gerçekleştirildi. İntestinal biyobelirteçlerin (sitruilin, iFABP, zonulin ve IAP), biyokimya analizlerinin, sitokinler (interleukin 1 $\beta$ , interleukin 6, TNF-alfa), akut faz proteinlerinin (SAA, Hp) değerlendirilmesi amacıyla alınan kan örnekleri 1 saat içerisinde santrifüj edildi ve elde edilen serum ve plazma örnekleri analiz sürecine kadar (en fazla 6 ay süreyle) -20 ve -80 °C'de saklandı.

### 3.5. Analizlerin Gerçekleştirilmesi

Laboratuvar analizleri kapsamında hematoloji, kan gazları, biyokimya, sitokinler (interleukin 1 $\beta$ , interleukin 6, TNF-alfa), akut faz proteinleri (SAA, Hp) intestinal biyobelirteçler (sitruilin, iFABP, IAP, zonulin) değerlendirildi.



**Resim 6.** Analizlerin gerçekleştirilmesi.

### **3.5.1. Hematolojik ve Biyokimyasal Değerlendirme**

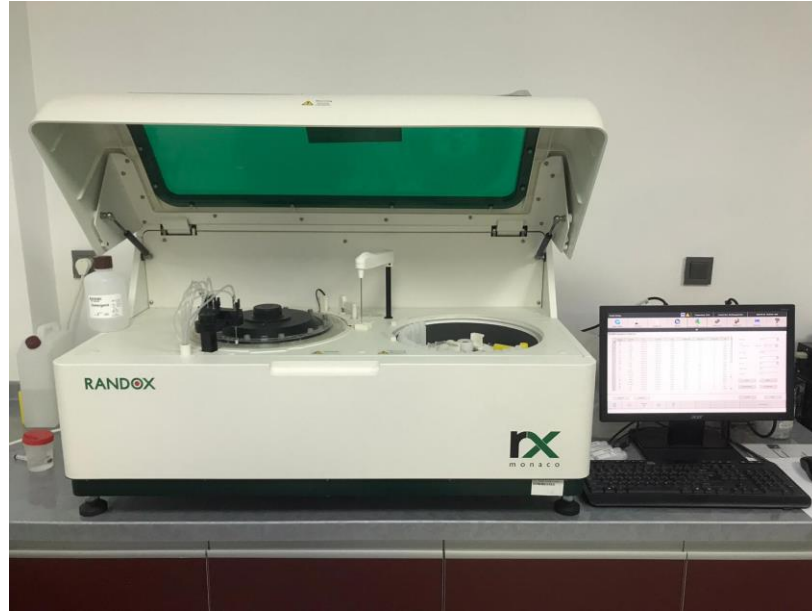
Total lokosit (WBC), eritrosit (RBC) ve trombosit (PLT) sayıları, hematokrit değer (HCT) otomatik kan sayım cihazında (Abacus Vet 5, Diatron, Macaristan) gerçekleştirildi (Resim 7).

Serum glukoz, aspartat aminotransferaz (AST), gamma glutamil transferaz (GGT), re, kreatinin, total protein, albümin, alkalen fosfotaz (ALP) analizleri ticari test kitleri ile otoanalizörde (Rx monaco, Randox, Amerika Birleşik Devletleri) gerçekleştirildi (Resim 8).





**Resim 7.** Kan sayım cihazı.



**Resim 8.** Otoanalizör.

### 3.5.2. Kan Gazları Analizi

Heparinli enjektörlere alınan venöz örneklerde, kan gazı analizörü (Radiometer ABL9, Amerika Birleşik Devletleri) ile pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, Hct, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl, laktat ve baz açığı ölçümleri gerçekleştirildi (Resim 9).



**Resim 9.** Kan gazları analiz cihazı.

### 3.5.3. Sitokinler ve Akut Faz Proteinleri

Yangısal durumun değerlendirilebilmesi amacıyla serum Hp, SAA ile IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  sitokin konsantrasyonları sığır spesifik ticari test kitleri (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, Çin) kullanılarak ELISA yöntemiyle ölçüldü.

### 3.5.4. İntestinal Biyobelirteçler

Plazma sitrulin konsantrasyonlarının analizi yüksek sensivite ve spesifite sağlayan Sıvı Kromatografisi/Sıralı Kütle Spektrometrisi (LC/MS/MS) yöntemi ile hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi. Bu kapsamda amino asit analizine yönelik ticari test kitleri (Amino acids, ImmuChrom GmbH, Almanya) LC/MS/MS cihazında (QTRAP 4500, AB Sciex, Amerika Birleşik Devletleri) yöntemine uygun olarak kullanıldı.

iFABP, IAP ve zonulin parametrelerinin değerlendirilmesinde sığır spesifik ticari ELISA test kitleri (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, Çin) ile üretici firmanın belirttiği yönteme uygun olarak kullanıldı.



### 3.6. İstatistiksel Analizler

Araştırmada elde edilen verilerin ortalama değer  $\pm$  standart hata ve minimum-maximum değerleri tablolar halinde sunuldu. Elde edilen parametrelerin dağılımını Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Verilerin normal dağılım göstermediği tespit edildi. Normal dağılım göstermediği belirlenen parametreler nonparametrik metotlarla analiz edildi. Araştırmanın başlangıcındaki kontrol (0. saat) verileri ile LPS infüzyonunu takiben sekiz farklı zaman diliminde elde edilen verilerin karşılaştırılmasında Friedman's Two-Way Anova testi kullanıldı. İstatistiksel analizler IBM SPSS 22.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm analizlerde  $p < 0,05$  düzeyi anlamlı kabul edildi. Ayrıca çalışmada değerlendirilen intestinal biyobelirteçlere ait grafikler Microsoft Office uygulamasında oluşturuldu.

## 4. BULGULAR

Buzağılara endotoksin uygulaması sonrası klinik muayene bulguları, alınan kan örnekleri ile gerçekleştirilen analizler kapsamında elde edilen hematolojik, kan gazları ve elektrolit bulguları, rutin biyokimyasal parametreler, sitokinler, akut faz proteinleri ve intestinal biyobelirteçler ile ilgili veriler alt başlıklar halinde sunulmuştur.

### 4.1. Klinik Muayene ve Skorlama

Buzağıların klinik skorlamaları ile ilgili değişiklikler Tablo 2’de sunuldu. Dışkı karakteri hariç diğer skorlarda 0. saate göre farklı zamanlarda anlamlı değişiklikler belirlendi. Skorlamalara ilgili değişiklikler daha çok 30. dakika ve 4. saat arasında gerçekleşti ve değişikliklerin genel olarak 12. saat itibariyle normal değerlere yaklaştığı gözlemlendi ( $p<0,05$ ).

Vital parametreler (Tablo 3) zamana göre değerlendirildiğinde vücut sıcaklığı, solunum ve kalp frekanslarında 0. saate göre farklı zamanlarda anlamlı yükselmeler belirlendi. Vücut sıcaklığının başlangıca (0. saat) göre, 2. ve 4. saatlerde artış gösterdiği kaydedildi ( $p<0,05$ ). Solunum frekansındaki en yüksek ortalama değerlere 30. dakikada ulaşıldı, 30. dakika ve 1. saat ( $p<0,001$ ) ile 2 ve 4. saatteki ( $p<0,05$ ) değişimler başlangıç değerine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Kalp frekansında uygulama sonrası 2., 4 ve 8. saat ölçümlerinde anlamlı artışlar görüldü ( $p<0,05$ ).

### 4.2. Hematolojik Bulgular

Buzağıların hematolojik parametreleri (Tablo 4) zamana göre değerlendirildiğinde WBC ve PLT sayılarında 0. saate göre farklı saatlerde anlamlı azalmalar belirlendi. RBC ve HCT değerlerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi.

WBC sayısı 30. dakika, 1. saatte ( $p<0,05$ ), 2 ve 4. saatlerde ( $p<0,01$ ) düşük belirlendi. Değerler 30. dakika ve 4. saat arası azalma eğilimi gösterirken 8. saat itibariyle normal aralıklara yaklaşarak hafif yükselme eğilimi gösterdi, 12. ve 24. saatlerde lökositoz durumu belirlenmekle birlikte değerler 48. saatte başlangıç değerine döndü.

Ortalama PLT sayısının başlangıca göre 2. saat ( $p<0,001$ ), 4. saat ( $p<0,05$ ), 8, 12. saat ( $p<0,001$ ) ve 24, 48. saatlerde ( $p<0,01$ ) anlamlı olarak azaldığı görüldü. Başlangıç değerine göre 30. dakika itibari ile başlayan azalış 2. saate kadar devam etti, 2. ve 8. saatler arasında bir dalgalanma meydana gelmekle beraber, değerlerin 48. saatin sonunda başlangıca göre düşük olduğu tespit edildi.

### **4.3. Kan Gazları ve Elektrolit Bulguları**

Kan gazları ve elektrolit değerlendirmesi (Tablo 5) kapsamında pH,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , Hct,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ , Cl, laktat ve baz açığı ölçümleri gerçekleştirildi. Parametrelerde zamana göre değişiklikler izlenmekle birlikte, yalnızca laktat konsantrasyonundaki farklılıklar anlamlı bulundu. Ortalama laktat konsantrasyonunda, 0. saate göre 30. dakika ( $p<0,001$ ), 1, 2, 4, 8. saatlerdeki ( $p<0,01$ ) artışlar anlamlı tespit edildi.

### **4.4. Biyokimyasal Bulgular**

Biyokimyasal parametreler kapsamında glukoz, AST, GGT, ALP, üre, kreatinin, total protein, albümin değerlendirildi (Tablo 6). Glukoz ve üre konsantrasyonlarında, AST, ALP enzim aktivitelerinde farklı zamanlarda değişiklikler belirlendi.

Ortalama glukoz konsantrasyonunda farklı zamanlarda dalgalanmalar görüldü, değerlerler 1 ve 4. saatlerde 0. saate göre düşük bulundu ( $p<0,05$ ). Üre konsantrasyonunda 1. saat ile birlikte bir artış görüldü, değerler 48. saat ile birlikte başlangıç değerine döndü. 0. saat ile karşılaştırıldığında üre konsantrasyonu 12. saat ( $p<0,01$ ) ve 24. saatte ( $p<0,05$ ) anlamlı yüksek bulundu. AST aktivitesi başlangıç değeri ile karşılaştırıldığında 8. saat ( $p<0,05$ ), 12 ve 24. saatlerde ( $p<0,01$ ) yüksek belirlendi. ALP aktivitesi 2 ve 4. saatlerde 0. saate göre yüksekti ( $p<0,01$ ).

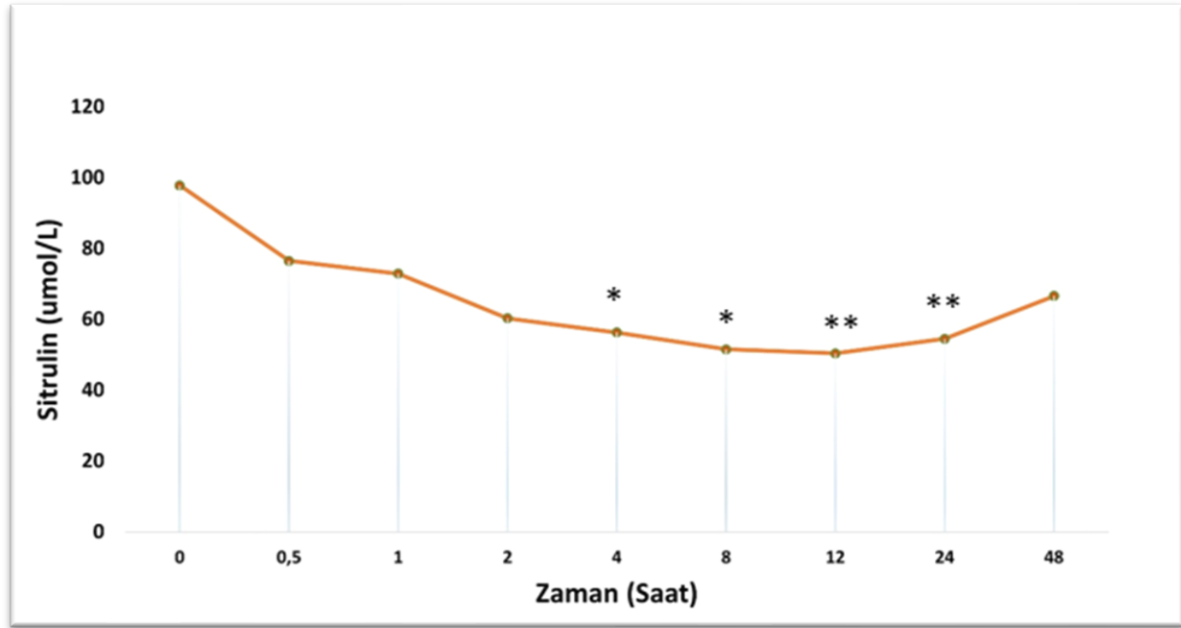
### **4.5. Sitokinler ve Akut Faz Proteinleri**

Sitokin yanıtın takibi için IL-1B, IL-6 ve TNF-alfa konsantrasyonları ölçüldü (Tablo 7). Parametrelerde zamana göre değişimler gözlenmekle birlikte farklar anlamlı değildi. Akut faz proteinleri değerlendirildiğinde (Tablo 7), SAA konsantrasyonlarında zamana göre

farklılıklarda önem belirlenemezken, haptoglobin konsantrasyonunun 2, 8, 12 ve 24. saat düzeylerinin 0. saate göre yüksek olduğu belirlendi ( $p<0,01$ ).

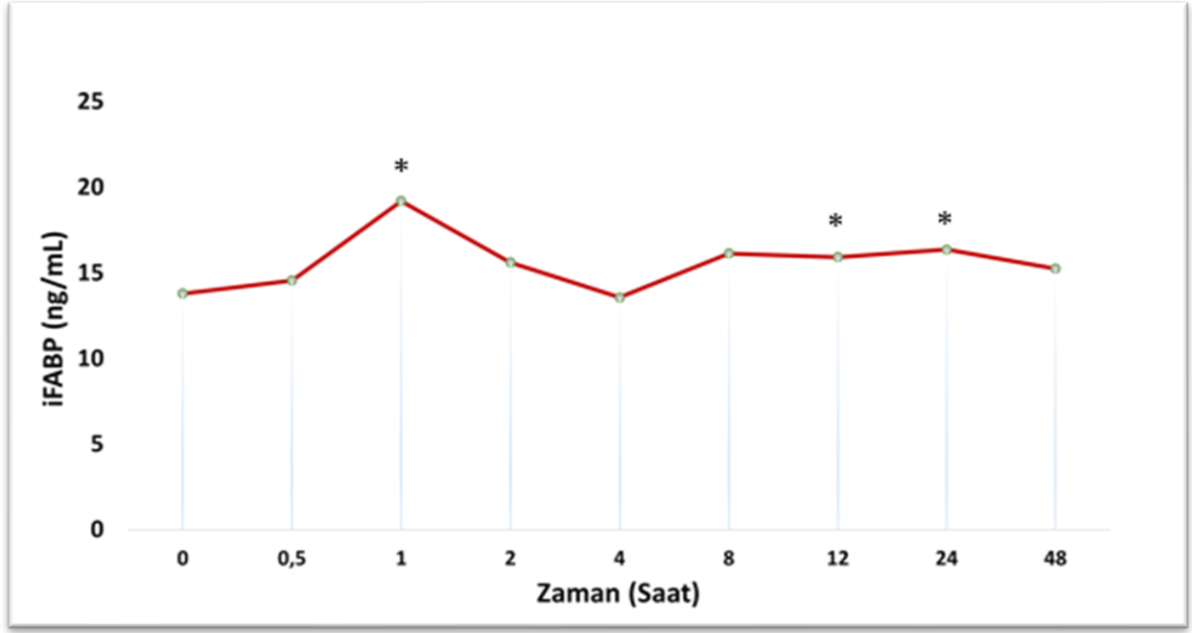
#### 4.6. İntestinal Biyobelirteçler

Buzağuların intestinal biyobelirteçleri kapsamında sitrulin, iFABP, IAP, zonulin parametreleri değerlendirildi (Tablo 8). Plazma sitrulin konsantrasyonu başlangıç değeri ile karşılaştırıldığında 30. dakika itibari ile belirgin bir azalma gözlemlendi. Bu azalmanın 48. saatin sonuna kadar sürdüğü ve bu süre boyunca plazma sitrulin konsantrasyonlarının başlangıca göre düşük seyrettiği tespit edildi. Özellikle 4. ve 8. saatler ( $p<0,05$ ) ile 12., 24. saatlerdeki ( $p<0,01$ ) azalmalar istatistiksel anlamlı bulundu (Şekil 11).



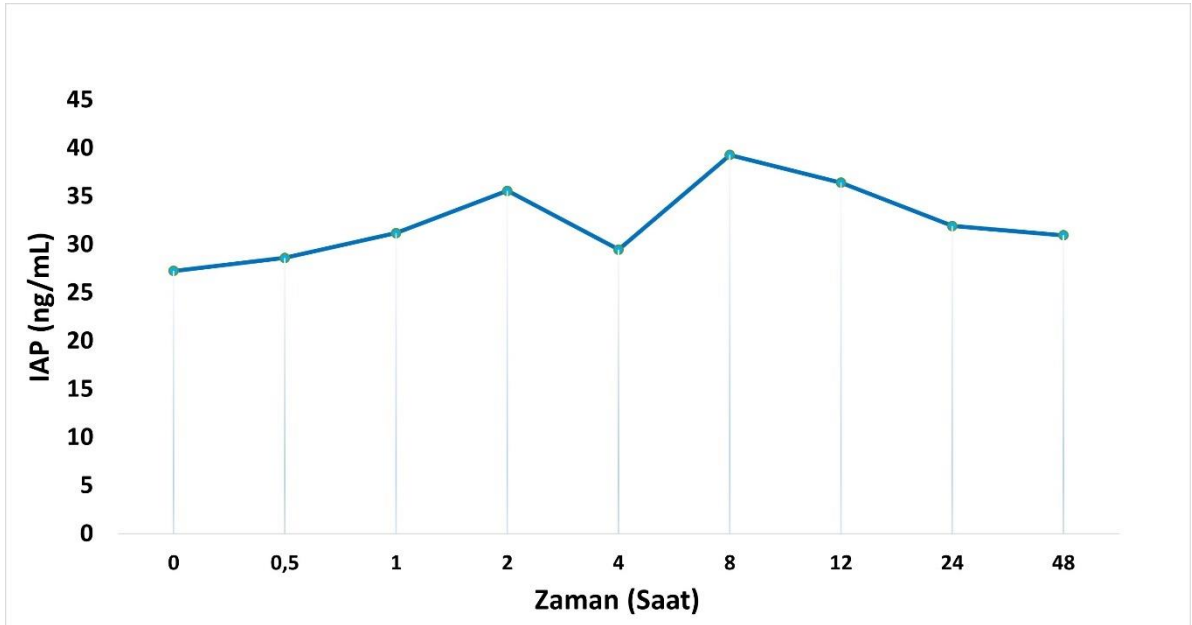
Şekil 11. Sitrulin konsantrasyonu zamana bağlı değişimi.

Ortalama iFABP konsantrasyonu zamana göre değerlendirildiğinde 1. saat ( $p<0,01$ ) 12 ve 24. saatlerdeki ( $p<0,05$ ) değişimler başlangıç değerine göre yüksek bulundu. LPS infüzyonunu takiben ortalama iFABP konsantrasyonu 1. saatte maksimum değerine ulaştı, sonrasında bir dalgalanma meydana gelmekle birlikte, değerlerin 48. saatte başlangıç düzeyine göre yüksek olduğu, ancak değerler arasındaki farkın istatistiksel anlamlı olmadığı görüldü (Şekil 12).



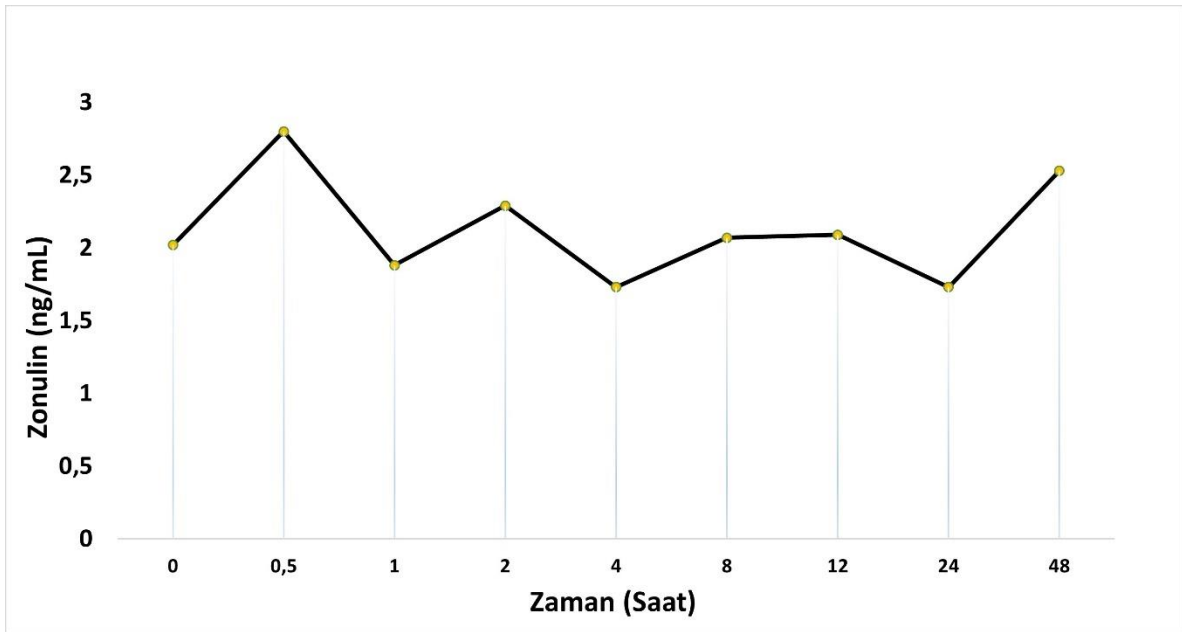
Şekil 12. iFABP konsantrasyonu zamana bağlı değişimi.

Ortalama IAP konsantrasyonunda 30. dakika ile başlayan bir artış görüldü, bu artış 48. saatin sonuna kadar devam etti ancak değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlam göstermedi (Şekil 13).



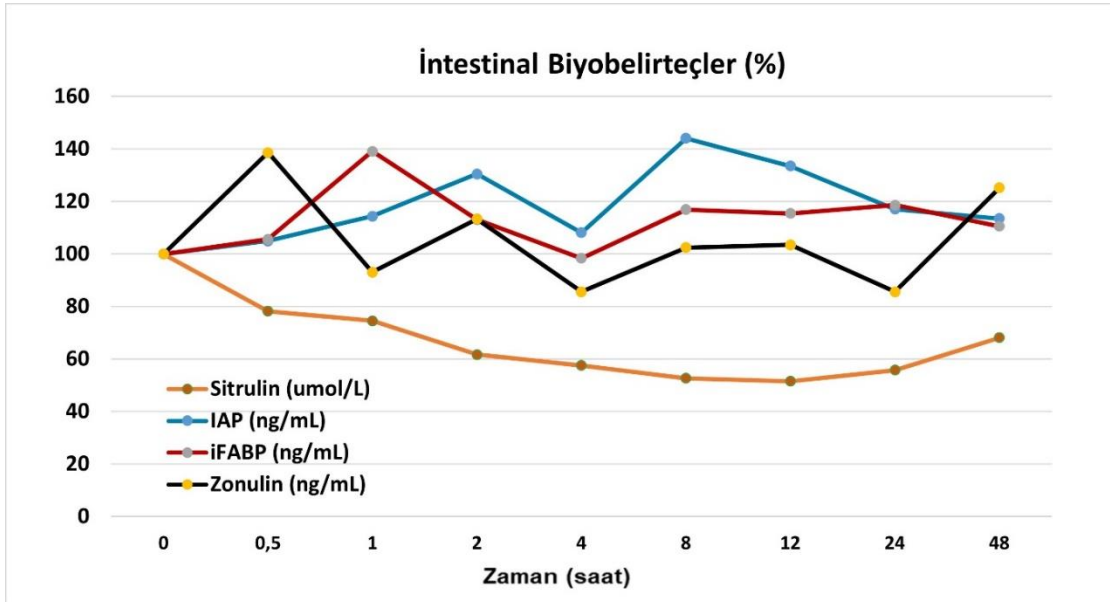
Şekil 13. IAP aktivitesi zamana bağlı değişimi.

Zonulin konsantrasyonunda zamana göre dalgalanmalar görülmekle birlikte değişikliklerde istatistiksel anlamlılık tespit edilemedi (Şekil 14).



Şekil 14. Zonulin konsantrasyonu zamana bağlı değişimi.

İntestinal biyobelirteçlerin zamana bağlı değişimi başlangıç değerleri 100'e oranlanarak aşağıdaki grafikte sunulmuştur (Şekil 15).



Şekil 15. İntestinal biyobelirteçlerin zamana bağlı değişimi yüzde grafiği.

**Tablo 2.** Klinik skorlama ortanca değerleri.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
Solunum	5,0	2,5*	2,5*	2,0*	2,5*	4,0	4,0	5,0	5,0
Mukoz membranlar	5,0	4,0*	3,0*	3,0*	4,0*	5,0	5,0	5,0	5,0
İştah-emme refleksi	5,0	1,0*	1,0*	1,0*	2,0*	3,0	5,0	5,0	5,0
Mental refleks	5,0	3,0*	2,0*	2,5*	3,0*	4,0	4,5	5,0	5,0
Dışkı karakteri	5,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,0	3,0	3,0	5,0
Ayağa kalkabilme durumu	5,0	2,0*	2,0*	2,0*	2,0*	3,0*	4,0	5,0	5,0
Toplam klinik skor	30,0	17,5*	14,5*	14,5*	16,0*	20,5*	26,0	28,0	30,0

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “\*” ile işaretlenmiştir (\*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001).

**Tablo 3.** Buzağuların vital parametreleri.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
T (°C)	38,4±0,21	38,7±0,14	39±0,31	<b>39,7±0,4*</b>	<b>39,6±0,4*</b>	39,1±0,4	38,7±0,1	38,5±0,1	38,2±0,19
P (/dk)	109,1±7,07	88,3±10,27	106,8±9,46	<b>133,8±9*</b>	<b>156,3±22*</b>	<b>155,6±25*</b>	132,8±11,83	119,6±7,62	113,3±6,4
R (/dk)	34,6±5,53	<b>87,6±8,45***</b>	<b>80±7,87***</b>	<b>58,1±8,53*</b>	<b>50,3±5,94*</b>	50±10,92	41±6	28,6±2,11	32,0±2,48

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “\*” ile işaretlenmiştir (\*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001).



**Tablo 4.** Hematolojik parametreler.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
<b>WBC</b> (x10 <sup>9</sup> /L)	10,1±0,9	<b>2,8±0,3*</b>	<b>2,3±0,2*</b>	<b>1,7±0,29**</b>	<b>1,4±0,46**</b>	6,1±1,07	13,2±1,4	13,9±1,91	10,0±1,1
<b>RBC</b> (x10 <sup>12</sup> /L)	9,5±0,6	9,5±0,5	9,6±0,5	9,5±0,4	9,9±0,4	8,8±0,5	8,9±0,6	8,7±0,5	8,9±0,5
<b>PLT</b> (x10 <sup>9</sup> /L)	584,5±73,0	446,3±55,7	384,6±73	<b>286,8±62***</b>	<b>353,3±69,2*</b>	<b>281,8±58***</b>	<b>301,6±55***</b>	<b>306,6±52**</b>	<b>331,0±64**</b>
<b>HCT (%)</b>	29,7±2,4	29,7±2,1	30,3±2,2	29,8±1,8	30,9±2,0	27,2±1,9	27,3±2,3	27,1±2,3	27,7±1,9

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “\*” ile işaretlenmiştir (\*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001).

**Tablo 5.** Kan gazları ve elektrolit parametreleri.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
pH	7,45±0,02	7,33±0,03	7,38±0,03	7,41±0,02	7,41±0,04	7,41±0,03	7,43±0,02	7,43±0,01	7,40±0,01
pO <sub>2</sub> (mmHg)	33,6±16,6	29,1±3,1	34,5±5,2	32±4,5	35,3±5,7	47,3±7,1	41,8±8,2	35,1±2,3	40,3±4,7
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	44,9±3,3	55,9±4,4	48,3±2,4	44,1±2,5	41,9±1,7	43,8±1,9	45,3±1,3	45,8±1,92	48,1±1,6
K <sup>+</sup> (mmol/L)	4,66±0,11	5,34±0,23	4,52±0,13	4,34±0,12	4,37±0,14	4,39±0,16	4,30±0,05	4,01±0,14	4,5±0,1
Na <sup>+</sup> (mmol/L)	135±0,4	134±0,4	135,3±0,4	135±0,5	136,5±1,0	134,1±0,5	133,1±0,5	131,5±0,8	133,5±1,0
Ca <sup>2+</sup> (mmol/L)	1,35±0,02	1,40±0,04	1,39±0,05	1,27±0,03	1,23±0,01	1,27±0,02	1,24±0,02	1,36±0,02	1,36±0,03
Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	98,6±1,41	96,3±1,1	97,1±0,7	97,5±0,9	99,8±1,08	98,0±1,1	96,8±0,9	96,1±0,7	98,0±0,7
Baz açığı (mmol/L)	5,58±0,44	2,95±2,6	4,30±2,35	3,08±2,78	2,68±3,13	2,88±2,29	5,75±2,01	5,32±1,08	4,90±1,63
Laktat (mmol/L)	0,90±0,32	<b>4,80±0,71***</b>	<b>3,97±0,94**</b>	<b>3,66±1,02**</b>	<b>4,31±1,37**</b>	<b>3,35±0,7**</b>	1,84±0,55	2,19±0,42	1,45±0,17

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “\*” ile işaretlenmiştir (\*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001).

**Tablo 6.** Biyokimyasal parametreler.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
Glukoz (mg/dL)	116,4±12,6	120,4±13,4	<b>77,9±13,9*</b>	125,1±34,9	<b>72,2±9,4*</b>	81,1±8,9	93,6±8,9	127,9±9,	117,3±13,2
AST (U/L)	48,3±15,09	65,4±19	64,4±12,2	68,7±17,2	75,8±20,3	<b>111,4±23,7*</b>	<b>110,1±19,8**</b>	<b>100,1±18,0**</b>	73,0±22,1
GGT (U/L)	53±9,3	46,2±11,6	50,1±8,9	68±5,9	63,3±7,5	66,3±11,6	60,8±8,1	50,5±8,9	42,1±7,6
Üre (mg/dL)	18,5±2,1	16,1±3,4	20,3±1	22,2±1,7	22,1±1	22,7±4,9	<b>29,4±2,6**</b>	<b>26,9±3,5*</b>	19,9±3,9
Kreatinin (mg/dL)	0,97±0,06	0,94±0,07	0,91±0,07	0,88±0,05	0,90±0,05	0,95±0,03	0,94±0,06	0,95±0,07	0,82±0,06
Total protein (g/dL)	6,55±0,54	5,23±1,15	6,16±0,43	6,19±0,51	6,03±0,44	6,13±0,52	6,20±0,51	6,10±0,49	5,69±0,58
Albümin (g/dL)	3,56±0,24	3,47±0,21	3,42±0,21	3,30±0,27	3,35±0,24	3,37±0,24	3,35±0,26	3,25±0,29	3,18±0,3
ALP (U/L)	307±49	328±54	436±100	<b>780±182**</b>	<b>839±206**</b>	559±143	414±81	253±43	232±46

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “\*” ile işaretlenmiştir (\*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001).

**Tablo 7.** Sitokin yanıt ve akut faz proteinleri.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
<b>IL-1<math>\beta</math></b> (ng/L)	23,4 $\pm$ 1,1	28,6 $\pm$ 1,9	27,9 $\pm$ 2,0	29,3 $\pm$ 2,4	24,2 $\pm$ 1,37	29,57 $\pm$ 4	28,2 $\pm$ 1,2	24,9 $\pm$ 2,4	25,5 $\pm$ 1,3
<b>IL-6</b> (ng/L)	917,6 $\pm$ 120,0	1213,1 $\pm$ 153,9	1125,8 $\pm$ 203,7	1055,3 $\pm$ 120,5	995,0 $\pm$ 171,0	1010,8 $\pm$ 135,9	1014,5 $\pm$ 154,2	1021,6 $\pm$ 150,8	964,5 $\pm$ 82,1
<b>TNF-alfa</b> (ng/L)	375,5 $\pm$ 5,72	411,5 $\pm$ 17,5	440,4 $\pm$ 26,98	398,5 $\pm$ 28,9	378,3 $\pm$ 16,8	474,01 $\pm$ 35,32	423,0 $\pm$ 22,3	444,6 $\pm$ 48,5	407,0 $\pm$ 28,55
<b>Haptoglobin</b> ( $\mu$ g/mL)	99,3 $\pm$ 3,8	111,7 $\pm$ 9,2	147,7 $\pm$ 40,0	<b>149,2<math>\pm</math>30,9**</b>	119,8 $\pm$ 12,3	<b>184<math>\pm</math>63**</b>	<b>157<math>\pm</math>23**</b>	<b>123<math>\pm</math>7**</b>	111,4 $\pm$ 11,6
<b>SAA</b> ( $\mu$ g/mL)	3,66 $\pm$ 0,44	3,62 $\pm$ 0,49	3,84 $\pm$ 0,5	3,86 $\pm$ 0,39	4,41 $\pm$ 0,64	4,04 $\pm$ 0,53	3,95 $\pm$ 0,47	3,75 $\pm$ 0,36	3,50 $\pm$ 0,26

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “\*” ile işaretlenmiştir (\*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001).

**Tablo 8.** İntestinal biyobelirteçler.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
<b>iFABP (ng/mL)</b>	13,8±0,4	14,5±1,0	<b>19,2±1,6**</b>	15,6±0,4	13,5±0,9	16,1±0,4	<b>15,9±0,9*</b>	<b>16,3±0,5*</b>	15,2±0,4
<b>IAP (ng/mL)</b>	27,2±2,4	28,6±2,3	31,1±3,3	35,5±6,4	29,4±1,9	39,2±10,0	36,4±4,9	31,9±3,8	30,9±1,5
<b>Zonulin (ng/mL)</b>	2,0±0,3	2,8±0,6	1,8±0,3	2,2±0,2	1,7±0,07	2,0±0,4	2,0±0,4	1,7±0,2	2,5±0,7
<b>Sitrulin (µmol/L)</b>	97,8±8	76,5±5,3	72,9±4,7	60,3±2	<b>56,3±3,5*</b>	<b>51,5±2,7*</b>	<b>50,4±2,8**</b>	<b>54,5±7,5**</b>	66,6±8,4

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “\*” ile işaretlenmiştir (\*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001).

## 5. TARTIŞMA

Sepsis, enfeksiyon sonucu başlayan SIRS ile karakterizedir. Vücut sıcaklığı, lökosit sayısı, solunum ve kalp frekansı kriterleri ile değerlendirilebilen SIRS, genel anlamda sepsis varlığını düşündürülen en önemli bulgulardan biridir (Bone ve diğerleri, 1992; Wijnands ve diğerleri, 2015). Sepsis, ishallerde, genel durumun hızla bozulmasına, akut ölüme neden olabilmektedir (Basoglu ve diğerleri, 2004, 2014; Fecteau ve diğerleri, 2009). Neonatal ishallerde ishal durumunda, morbidite ve mortalitenin azaltılabilmesi için sepsisin erken teşhis edilip hızla tedaviye başlanması önem arz etmektedir (Ballou ve diğerleri, 2011; Basoglu ve diğerleri, 2014).

LPS, Gram-negatif bakterilerin dış membranının yapısal bir parçasıdır. Lipopolisakkaritin intravenöz olarak uygulanması, septik hastalıklarda gözlenen başlangıç inflamatuvar yanıtına benzer kısa süreli, iyi tolere edilen ve kontrollü bir sistemik inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır (Bahador ve Cross, 2007). LPS uygulamasına verilen yanıt farklı türlerde sepsis modeli olarak kullanılmaktadır (Bahador ve Cross, 2007). Sığırlarda da çeşitli deneysel modeller bildirilmiştir. Sığırlarda LPS'nin en yaygın uygulama şekli intravenözdür, *E. coli* LPS ise en sık uygulanan endotoksin türüdür. O55:B5 ve O111:B4 serotipleri, çalışmalar sırasında sıklıkla kullanılan serotiplerdir. Buzağılarda intravenöz uygulanan *E. coli* LPS dozları, O55:B5 ve O111:B4 serotipleri için sırasıyla 0.01-20 µg/kg ve 0.1-2.5 µg/kg arasında değişmektedir (Plessers ve diğerleri, 2015). Buzağılarda deneysel endotoksemi modelleri, inflamatuvar süreçleri, endotoksemiyle ilişkili bulguları anlamak, tedavi yaklaşımları geliştirmek amacıyla ülkemizdeki araştırmacılar tarafından da başarıyla kullanılmıştır (Elmas ve diğerleri, 2013; Şen ve Coşkun, 2008; Yılmaz ve diğerleri, 2013). Bu tez çalışmasında endotoksemi oluşturulması amacıyla *E. coli* O111:B4 suşu LPS 1 µg/kg dozda, intravenöz yolla uygulanmıştır.

Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve sepsis gibi kritik hastalıklar bağırsak hareketliliğini ve geçişini değiştirerek, mukozal bariyer bütünlüğünü, sıvı-elektrolit ve besinlerin emilimini, immünolojik aktiviteyi ve endokrin işlevi bozarak gastrointestinal fonksiyonun aksamasına neden olmaktadır (Hill, 2013). Gastrointestinal disfonksiyonun bakteriyel translokasyon, sistemik inflamasyon ve çoklu organ disfonksiyon sendromu gelişimi ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır (Piton ve Capellier, 2016). Gastrointestinal fonksiyonun

değerlendirilmesi için basit, pratik ve objektif bir yöntemin bulunmaması durumun yönetimini ve erken tanıyı zorlaştırmaktadır. Son yıllarda beşeri ve veteriner hekimlikte enterosit hasarının ve işlev bozukluğunun tanımlanmasında biyobelirteçler kullanılmaya başlamıştır. Deneysel ve klinik çalışmalar, farklı biyobelirteçlerin plazma seviyelerinin, gastrointestinal fonksiyonunun çeşitli yönlerini yansıtabileceğini göstermiştir (Celi ve diğerleri, 2017). Buzağılarda deneysel endotoksemi de intestinal biyobelirteçleri değerlendiren bir çalışmaya ise ulaşamamıştır. Bu nedenle, bu tez çalışmasında endotoksemi sürecinde buzağılarda, intestinal biyobelirteçler kapsamında sitrulin, iFABP, zonulin, IAP parametrelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Tartışma bölümünde genel ve özel bulgular alt başlıklar halinde aşağıda sunulmuştur.

### **5.1. Klinik Muayene ve Skorlama**

Klinik muayene kapsamında vücudun tutuluşu, deri elastikiyeti, mukoz membranlar, kapiller dolum zamanı, göz küresinin orbita çukurluğundaki konumu, kalp ve solunum frekansı, vücut sıcaklığı, emme refleksi, mental refleks, ayağa kalkabilme durumu ve dışkı karakteri değerlendirildi. Buzağılarda genel durumunun klinik skorlaması yapıldı (Tablo 3).

Sığırlarda, akciğerin endotoksinin ana hedef organı olduğu ifade edilmektedir (Plessers ve diğerleri, 2015). LPS uygulamasının ardından (ortalama  $17,9 \pm 3,1$  dakika) dispne, öksürük, stridor gibi klinik belirtilerin ortaya çıktığı ve bu bulguların proinflamatuar sitokin düzeylerindeki artıştan önce gerçekleştiği belirtilmektedir (Ohtsuka ve diğerleri, 1997; Preas ve diğerleri, 2001). Çalışmalar, uygulamadan sonra 30 dakika içinde maksimum solunum frekansına ulaşıldığını bildirmektedir (Bieniek ve diğerleri, 1998; Jacobsen ve diğerleri, 2005; Plessers ve diğerleri, 2015). Bu çalışmada, LPS uygulaması sonrası yaklaşık 15. dakikada başlayan ve 12 saat boyunca devam eden solunum sistemi bulgularının, literatürle uyumlu olduğu bulundu.

Endotoksin uygulamasının ardından ateşin ortaya çıkması, en dikkate değer klinik belirtilerden biridir. Ateş yanıtının, periferik olarak pirojenik sitokinlerin üretimiyle başladığı ve bu süreçte TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi sitokinlerin öne çıktığı belirtilmektedir (Conti ve diğerleri, 2004). Çalışmalar, endotoksin uygulama sonrası rektal vücut sıcaklığının 1 saat içinde arttığını ve 4-5 saat içinde maksimum seviyeye ulaştığını göstermektedir (Borderas ve diğerleri, 2008; Carroll ve diğerleri, 2009; Plessers ve diğerleri, 2015; Steiger ve diğerleri, 1999). Ateş yanıtı, uygulanan doz, uygulama yöntemi, vücut sıcaklığı ölçüm yöntemi, çevresel sıcaklık ve

hayvan türü gibi çeşitli faktörlerden etkilendiği için farklı çalışmalar arasında karşılaştırma yapmak zor olabilmektedir (Carroll ve diğerleri, 2013; Johnson ve von Borell, 1994). Bu çalışmada da LPS uygulaması sonrası vücut sıcaklığı 4. saatte maksimum düzeyde belirlenirken, 2. ve 4. saatlerdeki artışlar başlangıca göre anlamlı bulunmuştur.

Kalp frekansının seyriyle ilgili elde edilen sonuçlar tam olarak net olmamakla birlikte yapılan çalışmalar, ateşin başlamasıyla birlikte kalp frekansının arttığını ve kalp frekansı ile rektal vücut sıcaklığının neredeyse aynı anda maksimum noktaya ulaştığını göstermektedir (Bieniek ve diğerleri, 1998; Kinsbergen ve diğerleri, 1994; Plessers ve diğerleri, 2015). Bu durum, ateşin negatif inotropik etkisi olduğu ve kalp frekansındaki artışın kontraktilitenin azalması ve artan periferik oksijen talebini karşılamak için gerçekleştiği şeklinde yorumlanmıştır (Haupt ve Rackow, 1983). Bu çalışmada da en yüksek kalp frekansı vücut sıcaklığının maksimum değere ulaştığı 4. saatte gözlemlendi.

LPS uygulamasından sonra, sığırlarda genel depresyon ve iştahsızlık gözlemlenebilmektedir (Borderas ve diğerleri, 2008). Bu davranışsal değişiklikler özellikle IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerle ilişkilendirilmiştir. Depresyon aşamasında, iştahsızlık ve davranış değişiklikleri ile birlikte ateşin ortaya çıktığı görülmüştür. (Conti ve diğerleri, 2004; Dantzer, 2009; Johnson, 2002; Pecchi ve diğerleri, 2009). Buzağılarda depresyon evresinde, anoreksi ve yan yatma gibi belirtiler sıkça gözlenmektedir. Ayrıca, Borderas ve diğerleri (2008), kendi kendini temizleme, geniş getirme ve yem tüketiminde azalma, yatış süresinde artış ve hareketsizlik gibi belirtiler üzerinde durmuşlardır (Jacobsen ve diğerleri, 2005). Bu tez çalışmasında, LPS uygulanan buzağuların merkezi sinir sistemi bulguları kapsamında, mental refleks, emme refleksi ve ayağa kalkabilme durumu gibi bulgular izlenmiştir. LPS uygulaması sonrasında, 15. dakikadan itibaren başlayan bir pulmoner yanıt şekillenmiş ve buzağular yaklaşık 30. dakikada belirgin bir depresyon fazına girmiş, yan pozisyonda yatmaya başlamışlardır. Bu süreçte, iştah ve emme refleksleri büyük ölçüde kaybolmuştur. Genel olarak, 4 ila 8 saatlik bir süre sonunda bulgular normale dönmeye başlamıştır. Elde edilen bulgular, literatürde belirtilen diğer çalışmalarla uyumlu bir şekilde seyretmektedir.

## **5.2. Hematoloji ve Kan Gazı Parametreleri**

Yapılan birçok çalışma, endotoksin uygulanmasının çeşitli patofizyolojik değişiklikler yanında dolaşımdaki lökosit ve trombositlerin azalması olarak kendini gösteren hematolojik



değişikliklere yol açtığını belirtmektedir (Erve ve diğerleri, 1978; Goodman ve diğerleri, 1979; Smedegård ve diğerleri, 1989). Gram-negatif bakterilerden salınan bakteriyel endotoksinler olan LPS-protein kompleksleri, IL-1, TNF, IL-6 ve koloni stimüle edici faktör gibi endojen sitokinlerin indüksiyonuna sebep olmaktadır. LPS ile ilgili birçok fizyolojik tepkinin bu endojen sitokinler aracılığıyla gerçekleştiği anlaşılmıştır. Monositler tarafından üretilen monokin sitokinlerin, inflamasyon sırasında hematopoezin ve dolaşımdaki lökosit sayısının düzenlenmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Ulich ve diğerleri, 1989).

Endotoksin nedeniyle trombosit agregasyonunun artması, LPS'nin vasküler endotel hasarına ve koagülasyon sisteminin aktivasyonuna yol açması, deneysel endotoksemi sürecinde trombosit sayısında azalmalara yol açabilmektedir (Deldar ve diğerleri 1984). Uygulanan endotoksin dozunun, verilen klinik ve hematolojik yanıtının boyutunu etkileyebileceği belirtilmektedir (Andersen, 2003). LPS dozundaki artışla birlikte klinik bulguların, lökopeni/lökositoz ve trombositopeni yanıtının şiddetlendiği görülmüştür (Jacobsen ve diğerleri, 2005). Endotoksin dozu düşükse, lökopenik fazın geçici olduğu ve daha sonra bir lökositoz fazının ortaya çıktığı ifade edilmektedir. Süt sığırlarında intravenöz olarak *E. coli* LPS'nin değişen dozlarda (10, 100 ve 1000 ng/kg) uygulanması sonrası uygulanan tüm dozlarda lökopeni ve trombositopeni geliştiği, daha yüksek doz uygulanan sığırlarda lökositoz meydana geldiği belirtilmiştir. Buzağılarda gerçekleştirilen çalışmada LPS uygulamasını takiben total lökosit sayısında başlangıç değerine göre 8. saatte kadar devam eden bir azalma ve 12. saatten sonra ise lökositoz gözlenmiştir (Coşkun ve diğerleri, 2008). Seftiofurun buzağılarda deneysel endotoksemi sürecinde değerlendirildiği çalışmada LPS grubunda WBC, granülosit, lenfosit ve trombosit sayılarında düşmeler, RBC sayısında ise düzensiz değişimler tespit edilmiştir (Elmas ve diğerleri, 2013). Çalışmamız kapsamında lökosit ve trombosit sayılarında 0. saate göre farklı saatlerde anlamlı azalmalar belirlendi. RBC ve HCT değerlerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi. Görülen değişiklikler literatür bilgileri ve daha önce buzağılar üzerinde yapılan endotoksemi çalışmalarıyla uyumludur.

Endotoksemi uygulama sonrası asit-baz dengesinde bozulmalar meydana gelebilmektedir. Pulmoner vazokonstriksiyon sonucu respiratorik asidoz ve bunu takiben hiperlaktatemi gibi metabolik değişikliklerden dolayı metabolik asidoz gelişmektedir (Andersen, 2003). Buzağılarda deneysel olarak yapılan çalışmalar *E. coli* LPS uygulaması sonrası kan pH'nın 30. dakika ile birlikte düştüğü belirtmiştir (Constable ve diğerleri, 1991; Şen ve diğerleri, 2008). Coskun ve diğerleri 2015'in yaptığı çalışmada ise LPS uygulanan gruplarda, uygulama sonrası kan pH'sında sayısal azalmalar olmasına rağmen, istatistiksel

açından önem arz edecek bir değişim görülmemiştir. Laktat seviyesi LPS uygulanan gruplarda uygulama sonrası 1.saat ve sonrasında önemli oranda artış göstermiştir. Diğer kan gazları parametrelerinde hafif dalgalanmalar oluşmakla birlikte, önemli değişiklikler gözlenmemiştir (Coskun ve diğerleri, 2015). Çalışmamızda kan gazları ve elektrolitler kapsamında değerlendirilen parametreler Tablo 5'te sunuldu. Parametrelerde zamana göre değişiklikler izlenmekle birlikte, yalnızca laktat konsantrasyonundaki farklılıklar anlamlı bulundu. Ortalama laktat konsantrasyonunda, 0. saate göre 30. dakika, 1., 2., 4., 8. saatlerdeki artışlar anlamlı tespit edildi. Laktat seviyesindeki artışların endotoksemi sürecinde şekillenen doku hipoksisi ile birlikte anaerobik glikolizin artması sebebiyle gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

### 5.3. Biyokimyasal Parametreler

Biyokimyasal parametreler kapsamında glukoz, AST, GGT, ALP, üre, kreatinin, total protein, albümin değerlendirildi (Tablo 6). Üre konsantrasyonu 12. ve 24. saatlerde 0. saate göre yüksek bulundu. AST aktivitesi 8., 12. ve 24. saatlerde yüksek belirlendi. ALP aktivitesi 2. ve 4. saatlerde; 0. saate göre yüksek bulundu. Glukoz konsantrasyonu, 0. saate göre 1. ve 4. saatlerde düşük bulundu. Kreatinin, total protein, albümin parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik tespit edilemedi.

Sepsis sırasında renal sempatik sinir aktivitesinin artması ve anjiyotensin II, endotelin-1, tromboksan A2 ve lökotrienler gibi vazoaaktif moleküllerin salınması gibi çeşitli faktörler renal perfüzyonda değişime sebep olmaktadır. Birçok gözlemsel ve deneysel çalışma, septik şokta ve sepsiste sistemik hemodinamik dengesizlik ile böbrek fonksiyon bozukluğu arasında anlamlı ilişkiler olduğunu bildirmiştir (Post ve diğerleri, 2017). Sepsis sırasında sempatik sinir sistemi, renin-anjiyotensin-aldosteron eksenini ve vazopressinin salınımı şekillenmektedir. Bu tür bir endokrin uyarım, üre geri emiliminin mekanizmasını etkileyerek renal üre reabsorbsiyonuna katkıda bulunmaktadır (Harazim ve diğerleri, 2022). Protein katabolizasyonunda artış şekillendiğinde veya glomerüler filtrasyon hızı düştüğünde BUN konsantrasyonu artabilmektedir (Klaude ve diğerleri, 2012). Mevcut çalışmada da plazma üre konsantrasyonu 4. ve 12. saatlerde 0. saate yüksek belirlendi.

Deneysel ve gözlemsel çalışmalar sepsisin geçici hiperglisemiye yol açtığını, hastalık şiddetli ve uzun süreliyse hipogliseminin takip ettiğini belirtmektedir. Sepsis sırasında hipogliseminin patogenezi tam olarak anlaşılammamıştır. Hipoglisemiye yol açan olası

mekanizmalar arasında; karaciğerde glikojenoliz ve glukoneogenezin bozulması; insülin benzeri aktiviteye sahip endotoksin veya sitokinlerin varlığı; glikoz katabolizmasının artması; bakteri ve lökositler tarafından glikozun aşırı kullanımı yer almaktadır (Klein ve diğerleri, 2002). Buzağılarda *E. coli* O111:B4 LPS iv enjeksiyonu takiben 15 dakika içinde kan glukozu ve laktat konsantrasyonunda bir artış gözlenmiş, 3 saat sonra kan glukoz konsantrasyonunda ani bir düşüş meydana gelmiştir (Nagaraja ve diğerleri, 1979). Yine *E. coli* LPS uygulanan buzağılarda glikoz konsantrasyonlarında bifazik bir seyir izlenmiş 1. saatteki artış sonrası 6.-12. saatlerde önemli bir düşüş görülmüştür. Bu tez çalışmasında glukoz konsantrasyonu, 0. saate göre 1. ve 4. saatlerde düşük bulundu. Bu durumun LPS uygulamasının başlangıç aşamalarında katekolaminler ve kortikosteroidlerin salınmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Kumar ve Kumar Malik, 2001).

Septik şok ve şekillenen doku hipoperfüzyonu karaciğer hasarına sebep olabilmektedir. Karaciğer, LPS detoksifikasyonunda önemli bir fizyolojik rol oynamaktadır ve özellikle hepatositler, bağırsak kaynaklı endotoksinin temizlenmesinde rol oynamaktadır. Deneysel şok modellerinde, TNF-a, hepatosit apoptozunu indüklediği belirtilmektedir (Jirillo ve diğerleri, 2002). Bu çalışmada LPS uygulaması sonrası AST ve ALP enzim aktiviteleri zamana göre artış gösterdi. Bu artışların endotoksemi ve sepsis durumlarında şekillenen hepatoselüler fonksiyon bozukluğu ve karaciğer hasarı nedeniyle şekillenebileceği düşünülmektedir.

#### **5.4. Sitokinler ve Akut Faz Proteinleri**

Akut faz yanıtı, enfeksiyon, yaralanma, travma, inflamatuvar süreçler gibi durumlarda ortaya çıkabilen fizyolojik bir süreçtir (Ceciliani ve diğerleri, 2012). Akut faz yanıtın amacı enfeksiyöz etkenleri izole ve yok etmek, homeostaziye yeniden sağlamaktır (Janeway ve diğerleri, 2001). Akut faz tepkisi, doğuştan gelen immun yanıtla yer alan hücrelerin (makrofajlar, monositler) inflamatuvar sitokinleri (IL-1, IL-6 ve TNF) salgılanması ile başlamaktadır (Bochsler ve Slauson, 2002). Bu sitokinler, merkezi sinir sistemi (CNS), otonom sinir sistemi ve adrenal bez gibi homeostazisle ilgili birçok organı etkilemektedir (Moshage, 1997). Ruminantlarda teşhis açısından en önemli akut faz proteinleri Hp ve SAA'dır (Eckersall ve Bell, 2010). Birçok çalışma, farklı hastalıklara sahip sığırlarda inflamatuvar yanıtın oluşumunu ve şiddetini ölçmek için SAA ve Hp'nin klinik olarak yararlı bir parametre olabileceğini göstermiştir (Eckersall, 2000). Bu proteinlerin plazma konsantrasyonlarının, akut faz yanıtının indüklendiği durumlarda genellikle 10-100 kat artış gösterdiği belirtilmiştir (Cray

ve diğeri, 2009). Farklı çalışmalarda bu akut faz proteinlerinin maksimum seviyelerine 24-48 saatte ulaştığı görülmüştür (Kushibiki ve diğeri, 2008; Jacobsen ve diğeri, 2004). Bu tez çalışmasında akut faz proteinleri kapsamında, SAA konsantrasyonlarında zamana göre farklılıklarda anlam belirlenmemekle birlikte, haptoglobin konsantrasyonunun 2., 8., 12. ve 24. saatlerde 0. saate göre yüksek olduğu belirlendi. Çalışmada sitokin yanıtın takibi için IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF-alfa parameteleri ölçüldü, zamana göre değişimler gözlenmekle birlikte farklar anlamlı değildi. Endotoksemi modellerinde kullanılan farklı analitik teknikler, deneğin yaşı, türü, uygulanan endotoksinin dozu, verilme şekli/hızı gibi faktörlerin elde edilen sonuçlarda farklılığa sebep olabileceğini düşündürmektedir.

### 5.5. İntestinal Biyobelirteçler

Sitrulin, ince bağırsak enterositleri tarafından sentezlenen, esansiyel olmayan bir amino asittir. Sitrulin nitrik oksit öncüsüdür, üre döngüsü ve arjinin sentezinde görev almaktadır. Hepatik metabolizmada önemli olmasına rağmen, net üretimi neredeyse yalnızca ince bağırsakta gerçekleşmektedir. Çalışmalar, düşük sitrulin seviyelerinin intestinal fonksiyon bozukluğunun klinik belirtileriyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Blaser ve diğeri, 2019; Fagoni ve diğeri, 2020; Noordally ve diğeri, 2012; Shen ve diğeri, 2015). Gastrointestinal problemleri olan hastalarda yapılan çalışmalarda, plazma sitrulin düzeylerinin kısa bağırsak sendromlu hastalarda bağırsak uzunluğuyla ve Crohn veya çölyak hastalığı gibi enteropatilerde hastalığın şiddetiyle ilişkili olduğunu görülmüştür (Crenn ve diğeri, 2000, 2003; Fragkos ve diğeri, 2018). Ayrıca, plazma sitrulin düzeylerinin azalması, kript nekrozu, vilus atrofisi ve enterosit kaybı gibi patolojik bulgularla korelasyon göstermiştir (Jäckel ve diğeri, 2020).

Şiddetli sepsis ve septik şokun düşük plazma sitrulin konsantrasyonları ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Kao ve diğeri, 2009, 2013; Luiking ve diğeri, 2009; Wijnands ve diğeri, 2015). Sepsis sırasında plazma sitrulin konsantrasyonundaki azalmanın, sepsise bağlı olarak enterosit kütesinde meydana gelen azalmayı yansıttığı düşünülmektedir (Shen ve diğeri, 2015). İnsanlarda yapılan çalışmalarda sepsis ve kritik hastalık durumlarında sitrulin düzeylerinin genellikle normal aralığın (30-50 mmol/mL) altında olduğunu gösterilmiştir; ayrıca, düşük sitrulin seviyelerinin, gastrointestinal işlev bozukluğu ve mortalitede artış ile ilişkilendirildiğini ifade edilmiştir (Bode-Boger ve diğeri, 2003; Grimaldi ve diğeri, 2013; Li ve diğeri, 2007; Schwedhelm ve diğeri, 2008; Wu ve Morris 1998). Ayrıca, kritik

hastalardaki sitrulin seviyesinin <10 µmol/L olması, bakteriyel translokasyon ve ölüm riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Crenn ve diğerleri, 2014; Piton ve diğerleri, 2010).

Sitrulin konsantrasyonları farklı hayvan türlerinde intestinal fonksiyonun değerlendirilmesi yönüyle biyobelirteç olarak incelenmiştir. Sıçanlarda 3 farklı gruba *E. coli*, 0127:B8 LPS (7.5 mg/kg intraperitoneal) enjeksiyonu sonrası 12. saatte, sırasıyla oral bolus sitrulin, arjinin veya glutamin uygulanmış, uygulama sonrası sitrulin plazma yoğunluk-zaman eğrisi altında kalan alan değeri ve maksimum sitrulin konsantrasyonlarının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Elwafi ve diğerleri, 2012). Köpeklerde parvoviral enteritis ve Kanin distemper virüste akut ince bağırsak hasarının gösterilmesi yönüyle incelenmiş, enfekte köpeklerde sağlıklı köpeklere göre sitrulin konsantrasyonunun azaldığı belirtilmiştir (Dik ve diğerleri, 2023; Dossin ve diğerleri, 2011). Köpeklerde nonsteroid antiinflamatuvar ile oluşturulan gastrik hasar sonrası sitrulin konsantrasyonunun anlamlı olarak azaldığı görülmüştür (Shin ve diğerleri, 2019). Buzağılarda plazma sitrulin konsantrasyonuna ilişkin sınırlı çalışma gerçekleştirilmiştir (Hill ve diğerleri, 2008; Sultana ve diğerleri, 2003). Neonatal dönemdeki akut ishallerde buzağılarda plazma sitrulin ve arjinin konsantrasyonlarının değerlendirildiği çalışmada, sitrulin ve arjinin konsantrasyonlarının azaldığı ortaya konulmuştur. İshallerde buzağılarda plazma sitrulin konsantrasyonundaki azalmaların etiyojolojiye göre enfeksiyöz, SIRS değerlendirmesine göre ise SIRS pozitif olgularda daha belirgin olduğu gösterilmiştir (Gultekin ve diğerleri, 2019). Bu çalışmalar, düşük plazma sitrulin seviyesinin, bağırsak bariyer fonksiyonunun kaybı ve bakteriyel translokasyon riski taşıyan hastaları tanımlayabileceği görüşünü desteklemektedir.

Bu tez çalışması kapsamında plazma sitrulin konsantrasyonu başlangıç değeri ile karşılaştırıldığında 30. dakika itibari ile belirgin bir azalma gözlemlendi. Bu azalmanın 48. saatin sonuna kadar sürdüğü ve bu süre boyunca plazma sitrulin konsantrasyonlarının başlangıca göre düşük seyrettiği tespit edildi. Özellikle 4. ve 8. saatler 12., 24. saatlerdeki azalmalar istatistiksel anlamlı bulundu. Bu durumun endotoksemi sürecinde sitrulinin ana kaynağı olan enterositler tarafından sentezinin azalması (Blaser ve diğerleri, 2019), immün hücrelerde ve endotel hücrelerinde katabolizmasının artması, arjinin sentezinin indüklenmesi sonucu eksojen sitrulinin, arjininosüksinat sentaz ve arjininosüksinatilaz tarafından hızla arjinine dönüştürülmesi (Elwafi ve diğerleri, 2012) gibi sebeplerle gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

Bağırsak yağ asidi bağlayıcı proteinler uzun zincirli yağ asitlerinin taşınmasında ve metabolizmasında önemli roller oynayan düşük moleküler ağırlıklı (14-15 kDa) hücre içi proteinlerdir. Bu proteinler, mezenterik iskemi veya bağırsak nekrozu, bağırsak iskemisi ve sepsisi takiben mukozal hasar sonucu kan dolaşımına salınmaktadır bu nedenle, iFABP'ın, bağırsak bariyer disfonksiyonunun biyobelirteci olduğuna inanılmaktadır (He ve diğerleri, 2014; Kanda ve diğerleri, 2011; Matsumoto ve diğerleri, 2014; Shi ve diğerleri, 2015). iFABP seviyelerindeki artışlar, ağır egzersiz (Edinburgh ve diğerleri, 2018), majör cerrahi (Derikx ve diğerleri, 2008; Zou ve diğerleri, 2018), travma (de Haan ve diğerleri, 2009; Timmermans ve diğerleri, 2015), kardiyak arrest (Grimaldi ve diğerleri, 2013), sepsis (Derikx ve diğerleri, 2010), akut mezenterik iskemi (Cronk ve diğerleri, 2006) gibi bağırsak iskemisine neden olan durumlarda gösterilmiştir. iFABP plazma seviyelerindeki artış, enterosit hasarıyla ilişkili diğer durumlarda da gözlemlenmiştir; bunlar arasında çölyak hastalığındaki epitelyal inflamasyon ve villöz atrofi (Adriaanse ve diğerleri, 2013; Derikx ve diğerleri, 2009), radyoterapi ve kemoterapi sürecinin bağırsağa verdiği hasarın değerlendirilmesi (Kuiken ve diğerleri, 2017; Prattes ve diğerleri, 2016;) yer almaktadır.

Plazma iFABP konsantrasyonu ile bağırsak hasarının ilişkisi farklı hayvan türlerinde deneysel ve klinik çalışmalarla değerlendirilmiştir. Sıçanlarda lipopolisakkaritin peritoneal enjeksiyonu sonrası akut bağırsak fonksiyon bozukluğunun değerlendirildiği çalışmada, kontrollerle karşılaştırıldığında, septik sıçanlarda iFABP seviyelerinin yükseldiği, plazma sitrulin konsantrasyonlarının azaldığı ve villus uzunluklarının kısaldığı ortaya koyulmuştur (Shen ve diğerleri, 2015). Domuzlarda mezenterik iskemi, bağırsaktaki kan akışının azalmasına yol açarak intestinal geçirgenliğin ve iFABP seviyelerinin artmasına yol açmıştır (He ve diğerleri, 2014). Farklı çalışmalarda parvoviral enteritli köpeklerde iFABP konsantrasyonları ince bağırsak hasarının ortaya koyulması yönüyle incelenmiş enfeksiyöz gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Ay ve diğerleri 2022; Eregowda ve diğerleri, 2020; Gülersoy ve diğerleri, 2020). Kedilerde enfeksiyöz peritonit (FIP) veya kedi enterik koronavirüs (FECV)'te bağırsak hasarı ve onarımının incelenmesi için biyobelirteçler değerlendirilmiş efüzyona sahip FIP'li kedilerde serum IAP ve iFABP konsantrasyonları FECV'li kedilere göre daha yüksek olarak belirlenmiştir (Gülersoy ve diğerleri, 2023).

Ruminantlarda iFABP serum düzeylerinin, atrezia coli (Yıldız ve diğerleri, 2018), solunum problemi olan prematüre buzağılarda (Yıldız ve diğerleri, 2019), koksidiyozlu (Durgut ve Ok, 2023) ve neonatal ishallerli buzağılarda (Ok ve diğerleri, 2020) önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir. Çalışmalar arasında elde edilen ortalama iFABP değerlerinde farklılıklar

görülmektedir. Kullanılan farklı ELISA kitleri sonuçların değişkenliğine katkıda bulunabilmektedir (Peoc'h ve diğerleri, 2018).

Mevcut çalışmada ortalama iFABP konsantrasyonu zamana göre değerlendirildiğinde 1. saat ( $p<0,01$ ) 12. ve 24. saatlerdeki ( $p<0,05$ ) değişimler 0. saate göre anlamlı yüksek bulundu. LPS infüzyonunu takiben ortalama iFABP konsantrasyonu 1. saatte maksimum değerine ulaştı, sonrasında bir dalgalanma meydana gelmekle birlikte, değerlerin 48. saatte başlangıç düzeyine göre yüksek olduğu görüldü (Şekil 13). Normal şartlarda olgun enterositlerden portal dolaşıma iFABP salınımı gerçekleşmemektedir. Olgun enterositler hasar gördüğünde iFABP hücre dışı boşluğa salınmaktadır. Bu nedenle tez kapsamında şekillenen iFABP seviyelerindeki artışın endotoksemi sürecinde şekillenen enterosit hasarı (Piton ve Capellier, 2016) ve inflamasyonun neden olduğu bağırsakta şekillenen paraselüler değişikliklerden (Hietbrink ve diğerleri, 2009) meydana gelebileceği düşünülmektedir.

IAP yağ asidi emilimi ve LPS'leri fosforile etme rolleri ile bağırsak mikrobiyal homeostazisinin ve bağırsak bariyer fonksiyonunun korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. IAP ayrıca bağırsak yüzeyi pH'ının düzenlenmesine ve bağırsak mikrobiyotası bileşenlerinin fonksiyonuna katkıda bulunmaktadır (Santos ve diğerleri, 2022). IAP'ın bağırsak mukozasının savunmasındaki rolünü ve bağırsak mikrobiyotası ile etkileşimini doğrulamak amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada Buchet ve diğerleri (2013), oral IAP takviyesinin komensal bakterilerin gelişimini desteklediğini, antibiyotik tedavisi nedeniyle kaybedilen bağırsak mikrobiyotasının restorasyonunu sağladığı ve patojenik bir bakterilerin çoğalmasını inhibe ettiğini ifade etmiştir. Bu nedenle, IAP'ın tedavi olarak uygulanmasının, disbiyoz ve patojenik enfeksiyonlara karşı terapötik potansiyele sahip olabileceği düşünülmektedir (Buchet ve diğerleri, 2013; Estaki ve diğerleri, 2014). Ek olarak, IAP'ın bağırsak epitel hücrelerinde LPS'nin toksisitesini azalttığını, NF-kB aktivitesini inhibe ettiği ve bakteriyel patojenlerin intestinal epitel hücrelerine istilasını engelleyerek intestinal bariyer bütünlüğünün korunmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir (Shin ve diğerleri, 2014).

İshalli neonatal buzağılarda intestinal epitel hasarın belirlenmesinde biyobelirteçlerin değerlendirildiği çalışmada vaka grubunda kontrol grubuna göre ortalama serum IAP aktivitesinin yüksek olduğu görülmüştür (Ok ve diğerleri, 2020). Benzer şekilde atresia coli'li buzağılarda serum IAP aktivitesi sağlıklı buzağılara göre yüksek bulunmuştur (Yildiz ve diğerleri, 2018). Bu tez çalışmasında LPS uygulaması sonrası zamana göre değişiklikler belirlenmekle birlikte IAP aktivitesindeki farklılıklar istatistiksel anlam göstermedi. Ortalama

IAP aktivitesinde 30. dakika ile başlayan bir artış görüldü, değerler 48. saatte başlangıç düzeyine göre yüksek bulundu (Şekil 12). İstatistiksel olarak anlamlı olmayan bu artışın, IAP'ın bağırsak bariyer fonksiyonunun korunması ve LPS'yi detoksifiye etme rolleri ile ilişkili olarak intestinal hasarın önlenmesi için savunma amaçlı olabileceği (Santos ve diğerleri, 2022) düşünülmektedir.

Zonulin, ince bağırsağın epitelindeki bağırsak geçirgenliğini artıran, haptoglobin ailesine ait olan ve prehaptoglobin 2 (Pre-HP 2) olarak adlandırılan,  $\approx 47$ -kDa'lık bir proteindir (Wang ve diğerleri, 2000). Sıvı, makromoleküller ve lökositlerin dolaşım sistemi ile bağırsak lümeni arasında hareketinden sorumlu olan TJ'lerin düzenlenmesi gibi birkaç fonksiyonda rol oynadığı düşünülmektedir (Fasano, 2001). Bağırsak dokusunun patojenik ve patojenik olmayan bakterilere maruz kalması, zonulin yolunun aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (Clemente ve diğerleri, 2003; El Asmar ve diğerleri, 2002). Dolaşımdaki plazma zonulin'in bağırsak geçirgenliğinin potansiyel belirteci olduğu öne sürülmüştür (Fasano, 2012; Sapone, 2006). Mukozal bariyer fonksiyonunda bozulmayla ilişkilendirilen yüksek zonulin seviyeleri, gluten duyarlılığında (Barbaro ve diğerleri, 2020), irritabl bağırsak sendromunda (Singh ve diğerleri, 2019), inflamatuvar bağırsak hastalıklarında (Caviglia ve diğerleri, 2019; Vanuytsel ve diğerleri, 2013), neonatal sindirim sistemi anormallikleri (Łoniewska ve diğerleri, 2019) ve çevresel enterik disfonksiyon gibi hastalıklarda tanımlanmıştır (El Wakeel ve diğerleri, 2021).

Yapılan bir çalışmada bakteriyemik sepsiste bağırsak bariyeri fonksiyon bozukluğunun biyobelirteci olarak ZO-1 seviyeleri değerlendirilmiş ve ZO-1 seviyelerinin bakteriyemik sepsisli hastalarda önemli ölçüde arttığı ve serum endotoksin konsantrasyonları ile korelasyon gösterdiği görülmüştür (Assimakopoulos ve diğerleri, 2020). *In vitro* çalışmalar fare hücrelerinde (Han ve diğerleri, 2013) ve insan bağırsak hücrelerinde (Nébot-Vivinus ve diğerleri, 2014) LPS'nin bağırsak geçirgenliğini artırdığını ve hücre kültürlerindeki TJ'leri bozduğunu göstermiştir (Chen ve diğerleri, 2015; Lei ve diğerleri, 2014). Deneysel endotoksemi modelinde TJ proteinlerinin gen ekspresyonu, tavuklarda (Chen ve diğerleri, 2015; Gilani ve diğerleri, 2016) ve domuzlarda (Chen ve diğerleri, 2017; Pearce ve diğerleri, 2013) artan bağırsak geçirgenliğinin bir göstergesi olarak kullanılmıştır.

Kronik enteropatili köpeklerde intestinal permabilite belirteci olarak serum zonulin düzeyleri değerlendirilmiş anlamlı bir fark görülememiştir (Dinesh ve diğerleri, 2022). Sağlıklı yetişkin katılımcılarda intestinal permeabilitenin incelenmesi kapsamında laktuloz ramnoz oranı, zonulin konsantrasyonları ve vücut kompozisyonu ölçümleri arasındaki ilişkiler



değerlendirilmiş, laktuloz ramnoz oranı, laktuloz geri kazanım yüzdesi ve zonulin konsantrasyonları arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenmemiştir (Tatucu-Babet, 2020).

İshalli buzağılarda bağırsak bariyeri fonksiyonunun değerlendirilmesi için serum düzeyleri değerlendirilmiş, ishalli buzağılarda değerler daha yüksek bulunmuştur (Ural, 2022). Yine ishalli buzağılarda rektal lavman kurkumin tedavisinin bağırsak bariyeri üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada kurkumin uygulaması sonrası zonulin değerlerinin azaldığı görülmüştür (Alıc Ural ve diğerleri, 2024).

Bu tez çalışmasında zonulin konsantrasyonunda zamana göre dalgalanmalar görülmekle birlikte değişikliklerde istatistiksel anlamlılık tespit edilemedi (Şekil 14). Çalışmamız kapsamında zonulin konsantrasyonlarındaki değişimlerin istatistiksel önem arz etmemesinin hayvan sayısının az olması, kullanılan analiz yönteminin sonuçlarda değişkenliğe yol açması gibi sebeplerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızın sonuçlarını yorumlarken göz önünde bulundurulması gereken çeşitli sınırlamalar bulunmaktadır. Endotoksemi modellerinde gözlemlenen sonuçlardaki farklılıkların, uygulanan endotoksinin doz, suş ve veriliş yolları gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışma modelinin deneysel olması nedeniyle hayvan sayısı minimum tutulmuştur ve bu durumun istatistiksel güç açısından kısıtlamalara yol açabileceği düşünülmektedir. Çeşitli parametelerde kullanılan farklı analiz yöntemleri ya da ELISA kitlerinin değişkenliği de çalışmalar arası sonuçların karşılaştırılabilirliğini etkileyebilmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sepsisle seyreden kritik hastalıklarda şekillenen intestinal hasarı değerlendirmek için yeni tanı yöntemlerine duyulan ihtiyacın artması ile birlikte biyobelirteçler giderek önem kazanmaktadır. Gastrointestinal sistemin birçok fonksiyonu bulunması ve bunların birbiri ile etkileşim halinde olması nedeniyle, tek bir biyobelirteç gastrointestinal disfonksiyonu belirlemede yeterli olmamaktadır. Buzağılarda deneysel endotokseminde gastrointestinal fonksiyon belirteçlerini değerlendiren bir çalışmaya ulaşılamamıştır.

Bu tez çalışması kapsamındaki sonuçlar maddeler halinde sunulmuştur.

- Gözlemlenen klinik bulgular, tam kan ve biyokimyasal sonuçlar temelinde endotokseminin başarıyla oluşturulduğu kanısına varıldı.
- İntestinal belirteçlerin değerlendirilmesi kapsamında sitrulin, iFABP, zonulin konsantrasyonları ve IAP aktiviteleri buzağılarda deneysel endotoksemi modelinde ilk defa bu çalışmada ortaya konulmuştur.
- LPS uygulaması sonrası plazma sitrulin konsantrasyonunu belirgin olarak azaldı, iFABP konsantrasyonunda başlangıç değerlerine göre farklı saatlerde artış görüldü. Zamana göre değişiklikler belirlenmekle birlikte zonulin konsantrasyonu ve IAP aktivitesindeki farklılıklar istatistiksel anlam göstermedi.
- Tez kapsamında elde edilen veriler sitrulin ve iFABP'ın endotoksemi/sepsis sürecinde enterosit fonksiyonunu ve intestinal hasarı yansıtabileceği hipotezini desteklemektedir.

Elde edilen sonuçlar temelinde değerlendirilen biyobelirteçlerin sağlıklı hayvanlarda referans aralıklarının belirlenmesi, doğal enfeksiyon ve sepsis sürecindeki değişimlerinin ve bağırsak bariyer disfonksiyonu ile ilişkisinin ortaya konulması için daha geniş popülasyonları içeren çalışmaların gerçekleştirilmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Adriaanse, M. P. M., Tack, G. J., Passos, V. L., Damoiseaux, J. G. M. C., Schreurs, M. W. J., Van Wijck, K., ... Vreugdenhil, A. C. E. (2013). Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, 37(4), 482-490.
- Ajamian, M., Steer, D., Rosella, G., Gibson, P. R. (2019). Serum zonulin as a marker of intestinal mucosal barrier function: May not be what it seems. *PloS one*, 14(1), e0210728.
- Albin, D. M., Wubben, J. E., Rowlett, J. M., Tappenden, K. A., Nowak, R. A. (2007). Changes in small intestinal nutrient transport and barrier function after lipopolysaccharide exposure in two pig breeds. *Journal of Animal Science*, 85(10), 2517-2523.
- Alic Ural, D., Ural, K., Erdogan, H., Erdoğan, S., Balıkcı, C. (2024). Curcumin Enema might Regulate Intestinal Barrier Functions and Calf Hygiene Scoring. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 55(1), 23-31.
- Alipour, M. J., Jalanka, J., Pessa-Morikawa, T., Kokkonen, T., Satokari, R., Hynönen, U., ... Niku, M. (2018). The composition of the perinatal intestinal microbiota in cattle. *Scientific Reports*, 8(1), 10437.
- Allenspach, K. (2011). Clinical Immunology and Immunopathology of the Canine and Feline Intestine. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 41(2), 345–360. doi: 10.1016/j.cvsm.2011.01.004.
- Alsemgeest, S. P. M., Kalsbeek, H. C., Wensing, T., Koeman, J. P., Van Ederen, A. M., Gruys, E. (1994). Concentrations of serum Amyloid-a (SAA) and haptoglobin (HP) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *Veterinary Quarterly*, 16(1), 21-23.
- Andersen, P. H. (2003). Bovine endotoxemia—some aspects of relevance to production diseases. A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44(1), 1-15.
- Andreasen, A. S., Krabbe, K. S., Krogh-Madsen, R., Taudorf, S., Pedersen, B. K., Møller, K. (2008). Human endotoxemia as a model of systemic inflammation. *Current Medicinal Chemistry*, 15(17), 1697-1705.

- Arshad, M. A., Hassan, F. U., Rehman, M. S., Huws, S. A., Cheng, Y., Din, A. U. (2021). Gut microbiome colonization and development in neonatal ruminants: Strategies, prospects, and opportunities. *Animal Nutrition*, 7(3), 883-895.
- Assimakopoulos, S. F., Akinosoglou, K., de Lastic, A. L., Skintzi, A., Mouzaki, A., Gogos, C. A. (2020). The prognostic value of endotoxemia and intestinal barrier biomarker ZO-1 in bacteremic sepsis. *The American Journal of The Medical Sciences*, 359(2), 100-107.
- Ay, C. D., Tuna, G. E., Asici, G. S. E., Ulutas, B., Voyvoda, H. (2022). Serum intestinal fatty acid-binding protein and calprotectin concentrations to assess clinical severity and prognosis of canine parvovirus enteritis. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 28(1).
- Aygun, O. ve Yildiz, R. (2018). Evaluation of thrombomodulin and pentraxin-3 as diagnostic biomarkers in calves with sepsis. *Veterinárni Medicína*, 63(7), 313-320.
- Bahador, M. ve Cross, A. S. (2007). From therapy to experimental model: a hundred years of endotoxin administration to human subjects. *Journal of Endotoxin Research*, 13(5), 251-279.
- Bakker, J., Nijsten, M. W., Jansen, T. C. (2013). Clinical use of lactate monitoring in critically ill patients. *Annals of Intensive Care*, 3(1), 1-8.
- Ballou, M. A., Cobb, C. J., Hulbert, L. E., Carroll, J. A. (2011). Effects of intravenous *Escherichia coli* dose on the pathophysiological response of colostrum-fed Jersey calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 141(1-2), 76-83.
- Barbaro, M. R., Cremon, C., Morselli-Labate, A. M., Di Sabatino, A., Giuffrida, P., Corazza, G. R., ... Barbara, G. (2020). Serum zonulin and its diagnostic performance in non-coeliac gluten sensitivity. *Gut*, 69(11), 1966-1974.
- Basoglu, A., Baspinar, N., Tenori, L., Hu, X., Yildiz, R. (2014). NMR based metabolomics evaluation in neonatal calves with acute diarrhea and suspected sepsis: a new approach for biomarker/S. *Metabolomics*, 4(2), 1.

- Baumann, H., Gauldie, J. (1994). The acute phase response. *Immunology Today*, 15(2), 74-80.
- Bentala, H., Verweij, W. R., Huizinga-Van der Vlag, A., van Loenen-Weemaes, A. M., Meijer, D. K., Poelstra, K. (2002). Removal of phosphate from lipid A as a strategy to detoxify lipopolysaccharide. *Shock*, 18(6), 561-566.
- Beumer, C., Wulferink, M., Raaben, W., Fiechter, D., Brands, R., Seinen, W. (2003). Calf intestinal alkaline phosphatase, a novel therapeutic drug for lipopolysaccharide (LPS)-mediated diseases, attenuates LPS toxicity in mice and piglets. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307(2), 737-744.
- Bieniek, K., Szuster-Ciesielska, A., Kamińska, T., Kondracki, M., Witek, M., Kandfer-Szerszeń, M. (1998). Tumor necrosis factor and interferon activity in the circulation of calves after repeated injection of low doses of lipopolysaccharide. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 62(4), 297-307.
- Blake, A. B. ve Suchodolski, J. S. (2016). Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Animal Frontiers*, 6(3), 37-42.
- Blaser, A., Padar, M., Tang, J., Dutton, J., Forbes, A. (2019). Citrulline and intestinal fatty acid-binding protein as biomarkers for gastrointestinal dysfunction in the critically ill. *Anaesthesiology Intensive Therapy*, 51(3), 230-239.
- Bochsler, P. N. ve Slauson, D. O. (2002). Inflammation and repair of tissue. *Mechanisms of Disease: a Textbook of Comparative General Pathology*, 3rd ed. St. Louis, MO: Mosby, 141.
- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B., Dellinger, R. P., Fein, A. M., Knaus, W. A., ... Sibbald, W. J. (1992). Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, 101(6), 1644-1655.
- Borderas, T. F., De Passillé, A. M., Rushen, J. (2008). Behavior of dairy calves after a low dose of bacterial endotoxin. *Journal of Animal Science*, 86(11), 2920-2927.
- Buchet, R., Millán, J. L., Magne, D. (2013). Multisystemic functions of alkaline phosphatases. *Phosphatase Modulators*, 27-51.

- Kölbel, C. B., Rippel, K., Klar, H., Singer, M. V., van Ackern, K., Fiedler, F. (2000). Esophageal motility disorders in critically ill patients: a 24-hour manometric study. *Intensive Care Medicine*, 26, 1421-1427.
- Calhau, C., Martel, F., Hipólito-Reis, C., Azevedo, I. (2000). Differences between duodenal and jejunal rat alkaline phosphatase. *Clinical Biochemistry*, 33(7), 571-577.
- Canning, P. C. ve Baker, P. E. (1990). Selective alteration of bovine neutrophil responses by recombinant bovine interleukin-1 $\beta$ . *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 26(1), 1-12.
- Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M. A., Severi, C. (2015). The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology*, 28(2), 203–209.
- Carroll, J. A., Reuter, R. R., Chase Jr, C. C., Coleman, S. W., Riley, D. G., Spiers, D. E., ... Galyean, M. L. (2009). Profile of the bovine acute-phase response following an intravenous bolus-dose lipopolysaccharide challenge. *Innate Immunity*, 15(2), 81-89.
- Carroll, J. A., Sanchez, N. B., Chaffin, R., Chase Jr, C. C., Coleman, S. W., Spiers, D. E. (2013). Heat-tolerant versus heat-sensitive *Bos taurus* cattle: influence of air temperature and breed on the acute phase response to a provocative immune challenge. *Domestic Animal Endocrinology*, 45(3), 163-169.
- Caviglia, G. P., Dughera, F., Ribaldone, D. G., Rosso, C., Abate, M. L., Pellicano, R., ... Astegiano, M. (2019). Serum zonulin in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study. *Minerva Medica*, 110, 95-100.
- Ceciliani, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., Sauerwein, H. (2012). Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4207-4231.
- 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.

- Celi, P., Verlhac, V., Pérez Calvo, E., Schmeisser, J., Kluentner, A. M. (2019). Biomarkers of gastrointestinal functionality in animal nutrition and health. *Animal Feed Science and Technology*, 250(July), 9–31.
- Chaignat, C., Lagrost, L., Moretto, K., de Barros, J. P. P., Winiszewski, H., Grober, J., ... Piton, G. (2024). Plasma citrulline concentration and plasma LPS detection among critically ill patients a prospective observational study. *Journal of Critical Care*, 79, 154438.
- Chakraborty, R. K., Burns, B. (2019). Systemic inflammatory response syndrome. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing LLC, Treasure Island (FL)
- Chang, J. X., Chen, S., Ma, L. P., Jiang, L. Y., Chen, J. W., Chang, R. M., ... Huang, Z. T. (2005). Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 11(35), 5485.
- Chang, R. W., Javid, P. J., Oh, J. T., Andreoli, S., Kim, H. B., Fauza, D., Jaksic, T. (2006). Serial transverse enteroplasty enhances intestinal function in a model of short bowel syndrome. *Annals of Surgery*, 243(2), 223.
- Chen, K. T., Malo, M. S., Beasley-Topliffe, L. K., Poelstra, K., Millan, J. L., Mostafa, G., ... Hodin, R. A. (2011). A role for intestinal alkaline phosphatase in the maintenance of local gut immunity. *Digestive Diseases and Sciences*, 56, 1020-1027.
- Chen, S. W., Wang, P. Y., Zhu, J., Chen, G. W., Zhang, J. L., Chen, Z. Y., ... Pan, Y. S. (2015). Protective effect of 1, 25-dihydroxyvitamin d3 on lipopolysaccharide-induced intestinal epithelial tight junction injury in caco-2 cell monolayers. *Inflammation*, 38, 375-383.
- Chen, L., Xu, Y., Chen, X., Fang, C., Zhao, L., Chen, F. (2017). The maturing development of gut microbiota in commercial piglets during the weaning transition. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1688.
- Cheng, C., Wei, H., Xu, C., Xie, X., Jiang, S., Peng, J. (2018). Maternal soluble fiber diet during pregnancy changes the intestinal microbiota, improves growth performance, and reduces intestinal permeability in piglets. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(17), e01047-18.

- Chertoff, J., Chisum, M., Garcia, B., Lascano, J. (2015). Lactate kinetics in sepsis and septic shock: a review of the literature and rationale for further research. *Journal of Intensive Care*, 3, 1-4.
- Cho, Y. I., Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15(1), 1-17.
- Chow, J. C., Young, D. W., Golenbock, D. T., Christ, W. J., Gusovsky, F. (1999). Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *Journal of Biological Chemistry*, 274(16), 10689-10692.
- Chuang, C. K., Lin, S. P., Chen, H. H., Chen, Y. C., Wang, T. J., Shieh, W. H., Wu, C. J. (2006). Plasma free amino acids and their metabolites in Taiwanese patients on hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clinica Chimica Acta*, 364(1-2), 209-216.
- Clark, J. A. ve Coopersmith, C. M. (2007). Intestinal crosstalk—a new paradigm for understanding the gut as the “motor” of critical illness. *Shock* (Augusta, Ga.), 28(4), 384.
- 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.
- Constable, P. D. (2004). Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*, 18(1), 8-17.
- Conti, B., Tabarean, I., Andrei, C., Bartfai, T. (2004). Cytokines and fever. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 9(2), 1433-1449.
- Coskun, A., Güzelbektes, H., Sen, İ., Güzelbekteş H. (2015). Endotoksemili buzağuların tedavisinde tek aşına kolistin'in ve kolistin + meloksikam kombinasyonunun etkisi. *Tübitak Proje Sonuç Raporu*. Proje no: 112O396
- Coşkun, A., Aydoğdu, U., Güzelbekteş, H., Şen, İ. (2020). The levels of trace elements and macrominerals in calves with sepsis. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(3).



- Cray, C., Zaias, J., Altman, N. H. (2009). Acute phase response in animals: a review. *Comparative Medicine*, 59(6), 517-526.
- Crenn, P., Coudray–Lucas, C., Thuillier, F., Cynober, L., Messing, B. (2000). Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. *Gastroenterology*, 119(6), 1496-1505.
- Crenn, P., Messing, B., Cynober, L. (2008). Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clinical Nutrition*, 27(3), 328-339.
- Crenn, P., Neveux, N., Chevret, S., Jaffray, P., Cynober, L., Melchior, J. C., ... COIITSS Study Group. (2014). Plasma L-citrulline concentrations and its relationship with inflammation at the onset of septic shock: a pilot study. *Journal of Critical Care*, 29(2), 315-e1.
- Crenn, P., Vahedi, K., Lavergne-Slove, A., Cynober, L., Matuchansky, C., Messing, B. (2003). Plasma citrulline: a marker of enterocyte mass in villous atrophy-associated small bowel disease. *Gastroenterology*, 124(5), 1210-1219.
- Cronk, D. R., Houseworth, T. P., Cuadrado, D. G., Herbert, G. S., McNutt, P. M., Azarow, K. S. (2006). Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) for the detection of strangulated mechanical small bowel obstruction. *Current Surgery*, 63(5), 322-325.
- Cullor, J. S. (1992). Shock attributable to bacteremia and endotoxemia in cattle: Clinical and experimental findings. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200(12), 1894-1902.
- Dantzer, R. (2009). Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunology and Allergy Clinics*, 29(2), 247-264.
- de Haan, J. J., Lubbers, T., Derikx, J. P., Relja, B., Henrich, D., Greve, J. W., ... Buurman, W. A. (2009). Rapid development of intestinal cell damage following severe trauma: a prospective observational cohort study. *Critical Care*, 13, 1-7.
- de Oliveira, M. N. V., Jewell, K. A., Freitas, F. S., Benjamin, L. A., Tótola, M. R., Borges, A. C., ... Suen, G. (2013). Characterizing the microbiota across the gastrointestinal tract of a Brazilian Nelore steer. *Veterinary Microbiology*, 164(3-4), 307-314.

- Deitch, E. A. (1992). Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Annals of Surgery*, 216(2), 117.
- Dellinger, R. P., Schorr, C. A., Levy, M. M. (2017). A users' guide to the 2016 surviving sepsis guidelines. *Intensive Care Medicine*, 43, 299-303.
- Deniz, A. S., Erdoğan, H., Ural, K. (2021). Heat stress, intestinal barrier disruption and calves: multidisciplinary perspective field study. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 6(3), 265-269.
- Derikx, J. P., Bijker, E. M., Vos, G. D., van Bijnen, A. A., Heineman, E., Buurman, W. A., van Waardenburg, D. A. (2010). Gut mucosal cell damage in meningococcal sepsis in children: relation with clinical outcome. *Critical Care Medicine*, 38(1), 133-137.
- Derikx, J. P., Matthijsen, R. A., de Bruïne, A. P., van Dam, R. M., Buurman, W. A., Dejong, C. H. (2011). A new model to study intestinal ischemia-reperfusion damage in man. *Journal of Surgical Research*, 166(2), 222-226.
- Derikx, J. P., Poeze, M., van Bijnen, A. A., Buurman, W. A., Heineman, E. (2007). Evidence for intestinal and liver epithelial cell injury in the early phase of sepsis. *Shock*, 28(5), 544-548.
- Derikx, J. P., van Waardenburg, D. A., Thuijls, G., Willigers, H. M., Koenraads, M., van Bijnen, A. A., ... Buurman, W. A. (2008). New insight in loss of gut barrier during major non-abdominal surgery. *PloS one*, 3(12), e3954.
- Derikx, J. P., Vreugdenhil, A. C., Van den Neucker, A. M., Grootjans, J., van Bijnen, A. A., Damoiseaux, J. G., ... Buurman, W. A. (2009). A pilot study on the noninvasive evaluation of intestinal damage in celiac disease using I-FABP and L-FABP. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 43(8), 727-733.
- Dickson, R. P. (2016). The microbiome and critical illness. *The Lancet Respiratory Medicine*, 4(1), 59-72.
- Dik, I., Hatipoglu, D., Gulersoy, E. (2023). Comparison of some cytokines, acute phase proteins and citrulline levels in healthy and canine distemper infected dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 85(1), 76-82.

- Dinesh, N., Slovak, J. E., Kogan, C., Kopper, J. J. (2022). Preliminary evaluation of serum zonulin in canine chronic enteropathies. *Journal of Small Animal Practice*, 63(9), 679-685.
- Dogan, M. D., Ataoglu, H., Akarsu, E. S. (2000). Effects of different serotypes of *Escherichia coli* lipopolysaccharides on body temperature in rats. *Life Sciences*, 67(19), 2319-2329.
- Doig, C. J., Sutherland, L. R., Dean Sandham, J., Fick, G. H., Verhoef, M., Meddings, J. B. (1998). Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 158(2), 444-451.
- Dossin, O., Rupassara, S. I., Weng, H. Y., Williams, D. A., Garlick, P. J., Schoeman, J. P. (2011). Effect of parvoviral enteritis on plasma citrulline concentration in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(2), 215-221.
- Du, Y., Gao, Y., Hu, M., Hou, J., Yang, L., Wang, X., ... Xu, Q. (2023). Colonization and development of the gut microbiome in calves. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1), 46.
- Durgut, M. K. ve Ok, M. (2023). Evaluation of Some Intestinal Biomarkers in the Determination of Intestinal Damage in Calves with Coccidiosis. *Tropical Animal Science Journal*, 46(2), 221-230.
- Eckersall, P. D. (2000). Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue De Medecine Veterinaire*, 151(7), 577-584.
- Eckersall, P. D. ve Bell, R. (2010). Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, 185(1), 23-27.
- Edinburgh, R. M., Hengist, A., Smith, H. A., Travers, R. L., Koumanov, F., Betts, J. A., ... Gonzalez, J. T. (2018). Preexercise breakfast ingestion versus extended overnight fasting increases postprandial glucose flux after exercise in healthy men. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 315(5), E1062-E1074.

- El Asmar, R., Panigrahi, P., Bamford, P., Berti, I., Not, T., Catassi, C., ... Fasano, A. (2000). Zonulin is involved in the impairment of the gut barrier function following small intestinal bacterial colonization. *Gastroenterology*, 118(4).
- 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.
- El Wakeel, M. A., El-Kassas, G. M., Hashem, S. A., Hasanin, H. M., Ali, W. H., Elkhatib, A. A., ... Fadl, N. N. (2021). Serum Biomarkers of Environmental Enteric Dysfunction and Growth Perspective in Egyptian Children. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(B), 1625-1632.
- Elmas, M., Yazar, E., Üney, K., Er, A., Altan, F. (2013). Seftiofurun Yeni Doğan Buzağlardaki Dozaj Rejimi Üzerine Deneysel Şok ve Kombine Tedavi Uygulamalarının Etkilerinin Belirlenmesi. *Tübitak Proje Sonuç Raporu*. Proje no: 110O404
- Elwafi, F., Curis, E., Zerrouk, N., Neveux, N., Chaumeil, J. C., Arnaud, P., ... Moinard, C. (2012). Endotoxemia affects citrulline, arginine and glutamine bioavailability. *European Journal of Clinical Investigation*, 42(3), 282-289.
- Eregowda, C. G., De, U. K., Singh, M., Prasad, H., Sarma, K., Roychoudhury, P., ... Behera, S. K. (2020). Assessment of certain biomarkers for predicting survival in response to treatment in dogs naturally infected with canine parvovirus. *Microbial Pathogenesis*, 149, 104485.
- Erve, P. R., Schuler, J. J., Schumer, W. (1978). Endotoxin-Challenged Monkeys and Rats: Glucocorticoid Effect on the Serotonin Level in the Blood. *Archives of Surgery*, 113(5), 561-564.
- Estaki, M., DeCoffe, D., Gibson, D. L. (2014). Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(42), 15650.
- Faderl, M., Noti, M., Corazza, N., Mueller, C. (2015). Keeping bugs in check: The mucus layer as a critical component in maintaining intestinal homeostasis. *IUBMB Life*, 67(4)

- Fagoni, N., Piva, S., Marino, R., Chiarini, G., Ferrari, D., Grespi, E., ... Rasulo, F. (2020). The IN-PANCIA study: clinical evaluation of gastrointestinal dysfunction and failure, multiple organ failure, and levels of citrulline in critically ill patients. *Journal of Intensive Care Medicine*, 35(3), 279-283.
- Fasano, A. (2001). Pathological and therapeutical implications of macromolecule passage through the tight junction. *Tight Junctions*, 715-740.
- Fasano, A. (2012). Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1258(1), 25-33.
- Fasano, A., Baudry, B., Pumplun, D. W., Wasserman, S. S., Tall, B. D., Ketley, J. M., Kaper, J. B. (1991). *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 88(12), 5242-5246.
- Fasano, A., Fiorentini, C., Donelli, G., Uzzau, S., Kaper, J. B., Margaretten, K., ... Goldblum, S. E. (1995). Zonula occludens toxin modulates tight junctions through protein kinase C-dependent actin reorganization, in vitro. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(2), 710-720.
- Fay, K. T., Ford, M. L., Coopersmith, C. M. (2017). The intestinal microenvironment in sepsis. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1863(10), 2574–2583.
- Fecteau, G., Pare, J., Van Metre, D. C., Smith, B. P., Holmberg, C. A., Guterbock, W., Jang, S. (1997). Use of a clinical sepsis score for predicting bacteremia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm. *The Canadian Veterinary Journal*, 38(2), 101.
- Fecteau, G., Smith, B. P., George, L. W. (2009). Septicemia and meningitis in the newborn calf. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 195-208.
- Fink, M. P. (2003). Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness. *Current Opinion in Critical Care*, 9(2), 143-151.
- Flam, B. R., Eichler, D. C., Solomonson, L. P. (2007). Endothelial nitric oxide production is tightly coupled to the citrulline–NO cycle. *Nitric Oxide*, 17(3-4), 115-121.

- Fragkos, K. C. ve Forbes, A. (2018). Citrulline as a marker of intestinal function and absorption in clinical settings: A systematic review and meta-analysis. *United European Gastroenterology Journal*, 6(2), 181-191.
- Furuhashi, M. ve Hotamisligil, G. S. (2008). Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(6), 489-503.
- Gerou-Ferriani, M., Allen, R., Noble, P. J. M., German, A. J., Caldin, M., Batchelor, D. J. (2018). Determining optimal therapy of dogs with chronic enteropathy by measurement of serum citrulline. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(3), 993-998.
- Gilani, S., Howarth, G. S., Kitessa, S. M., Forder, R. E., Tran, C. D., Hughes, R. J. (2016). New biomarkers for intestinal permeability induced by lipopolysaccharide in chickens. *Animal Production Science*, 56(12), 1984-1997.
- Goldberg, R. F., Austen Jr, W. G., Zhang, X., Munene, G., Mostafa, G., Biswas, S., ... Hodin, R. A. (2008). Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(9), 3551-3556.
- Goldblum, S. E., Rai, U., Tripathi, A., Thakar, M., De Leo, L., Di Toro, N., ... Fasano, A. (2011). The active Zot domain (aa 288–293) increases ZO-1 and myosin 1C serine/threonine phosphorylation, alters interaction between ZO-1 and its binding partners, and induces tight junction disassembly through proteinase activated receptor 2 activation. *The FASEB Journal*, 25(1), 144.
- Goodman, M. L., Way, B. A., Irwin, J. W. (1979). The inflammatory response to endotoxin. *The Journal of Pathology*, 128(1), 7-14.
- Grimaldi, D., Guivarch, E., Neveux, N., Fichet, J., Pène, F., Marx, J. S., ... Cariou, A. (2013). Markers of intestinal injury are associated with endotoxemia in successfully resuscitated patients. *Resuscitation*, 84(1), 60-65.
- Gulersoy, E., Ok, M., Yildiz, R., Koral, E., Ider, M., Sevinc, M., Zhunushova, A. (2020). Assessment of intestinal and cardiac-related biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 23(2).

- Gultekin, M., Voyvoda, H., Ural, K., Erdogan, H., Balikci, C., Gultekin, G. (2019). Plasma citrulline, arjinine, nitric oxide, and blood ammonia levels in neonatal calves with acute diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 987-998.
- Guo, S., Al-Sadi, R., Said, H. M., Ma, T. Y. (2013). Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. *The American Journal of Pathology*, 182(2), 375-387.
- Gül, F., Arslantaş, M. K., Cinel, İ., Kumar, A. (2017). Changing definitions of sepsis. *Turkish Journal of Anaesthesiology and Reanimation*, 45(3), 129.
- Gülersoy, E., Ok, M., Üney, K., Durgut, M. K., Parlak, T. M., Ekici, Y. E. (2023). Intestinal injury and vasculitis biomarkers in cats with feline enteric coronavirus and effusive feline infectious peritonitis. *Veterinary Medicine and Science*, 9(6), 2420-2429.
- Hackett, T. B. (2011). Gastrointestinal Complications of Critical Illness in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 41(4), 759-766.
- Han, K., Kim, K., Wang, J., Kim, H. (2013). Effect of unfermented and fermented atractylodes macrocephalae on gut permeability and lipopolysaccharide-induced inflammation. *Journal of Society of Korean Medicine for Obesity Research*, 13(1), 24-32.
- Harazim, M., Tan, K., Nalos, M., Matejovic, M. (2022). Blood urea nitrogen-independent marker of mortality in sepsis. *Biomedical Papers*. 167(1), 24-29.
- Harper, M., Cox, A. D., Adler, B., Boyce, J. D. (2011). Pasteurella multocida lipopolysaccharide: The long and the short of it. *Veterinary Microbiology*, 153(1-2), 109-115.
- Haupt, M. T., Rackow, E. C. (1983). Adverse effects of febrile state on cardiac performance. *American Heart Journal*, 105(5), 763-768.
- Haussner, F., Chakraborty, S., Halbgebauer, R., Huber-Lang, M. (2019). Challenge to the intestinal mucosa during sepsis. *Frontiers in Immunology*, 10(APR).

- He, C., Yang, S., Yu, W., Chen, Q., Shen, J., Hu, Y., ... Li, N. (2014). Effects of continuous renal replacement therapy on intestinal mucosal barrier function during extracorporeal membrane oxygenation in a porcine model. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 9, 1-9.
- Hietbrink, F., Besselink, M. G., Renooij, W., de Smet, M. B., Draisma, A., van der Hoeven, H., Pickkers, P. (2009). Systemic inflammation increases intestinal permeability during experimental human endotoxemia. *Shock*, 32(4), 374-378.
- Hill, L. T. (2013). Gut dysfunction in the critically ill - Mechanisms and clinical implications. *42 Southern African Journal of Critical Care*, 29(1), 11-15.
- Hill, T. L. (2019). Gastrointestinal Tract Dysfunction With Critical Illness: Clinical Assessment and Management. *Topics in Companion Animal Medicine*, 35, 47-52
- Hill, T. M., Bateman Ii, H. G., Aldrich, J. M., Schlotterbeck, R. L., Tanan, K. G. (2008). Optimal concentrations of lysine, methionine, and threonine in milk replacers for calves less than five weeks of age. *Journal of Dairy Science*, 91(6), 2433-2442.
- Hoffman, W. D., Natanson, C. (1993). Endotoxin in septic shock. *Anesthesia Analgesia*, 77(3), 613-624.
- Holzer, P. ve Farzi, A. (2014). Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis. *Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease*, 195-219.
- Honda, K. ve Littman, D. R. (2012). The microbiome in infectious disease and inflammation. *Annual Review of Immunology*, 30, 759-795.
- Jäckel, S., Emde, B., Lai, V., Weigt, S., Hanschke, B., Kasper, L., ... Schmitt, M. W. (2020). L-Citrulline as translational safety biomarker for the small intestine—An update. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 105, 106863.
- Jäckel, S., Pipp, F. C., Emde, B., Weigt, S., Vigna, E., Hanschke, B., ... Schmitt, M. W. (2021). L-citrulline: A preclinical safety biomarker for the small intestine in rats and dogs in repeat dose toxicity studies. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 111, 107110.



- Jacobs, M. C., Haak, B. W., Hugenholtz, F., Wiersinga, W. J. (2017). Gut microbiota and host defense in critical illness. *Current Opinion in Critical Care*, 23(4), 257–263.
- Jacobsen, S., Andersen, P. H., Toelboell, T., Heegaard, P. M. (2004). Dose dependency and individual variability of the lipopolysaccharide-induced bovine acute phase protein response. *Journal of Dairy Science*, 87(10), 3330-3339.
- Jacobsen, S., Toelboell, T., Andersen, P. (2005). Dose dependency and individual variability in selected clinical, haematological and blood biochemical responses after systemic lipopolysaccharide challenge in cattle. *Veterinary Research*, 36(2), 167-178.
- Jerala, R. (2007). Structural biology of the LPS recognition. *International Journal of Medical Microbiology*, 297(5), 353-363.
- Jirillo, E., Caccavo, D., Magrone, T. H. E. A., Piccigallo, E., Amati, L., Lembo, A., ... Gumenscheimer, M. (2002). The role of the liver in the response to LPS: experimental and clinical findings. *Journal of Endotoxin Research*, 8(5), 319-327.
- Johnson, R. W. (2002). The concept of sickness behavior: a brief chronological account of four key discoveries. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 87(3-4), 443-450.
- Johnson, R. W. ve Von Borell, E. (1994). Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs is inhibited by pretreatment with indomethacin. *Journal of Animal Science*, 72(2), 309-314.
- Kanda, T., Tsukahara, A., Ueki, K., Sakai, Y., Tani, T., Nishimura, A., ... Hatakeyama, K. (2011). Diagnosis of ischemic small bowel disease by measurement of serum intestinal fatty acid-binding protein in patients with acute abdomen: a multicenter, observer-blinded validation study. *Journal of Gastroenterology*, 46, 492-500.
- Kao, C. C., Bandi, V., Guntupalli, K. K., Wu, M., Castillo, L., Jahoor, F. (2009). Arginine, citrulline and nitric oxide metabolism in sepsis. *Clinical Science*, 117(1), 23-30.
- Kao, C., Hsu, J., Bandi, V., Jahoor, F. (2013). Alterations in glutamine metabolism and its conversion to citrulline in sepsis. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 304(12), E1359-E1364.

- Kenison, D. C., Elsasser, T. H., Fayer, R. (1991). Tumor necrosis factor as a potential mediator of acute metabolic and hormonal responses to endotoxemia in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 52(8), 1320-1326.
- Kinsbergen, M., Bruckmaier, R. M., Blum, J. W. (1994). Metabolic, endocrine and haematological responses to intravenous *E. coli* endotoxin administration in 1-week-old calves. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 41(1-10), 530-547.
- Kitajima, S., Tsuda, M., Eshita, N., Matsushima, Y., Saitoh, M., Momma, J., Kurokawa, Y. (1995). Lipopolysaccharide-associated elevation of serum and urinary nitrite/nitrate levels and hematological changes in rats. *Toxicology Letters*, 78(2), 135-140.
- Klaude, M., Mori, M., Tjäder, I., Gustafsson, T., Wernerman, J., Rooyackers, O. (2012). Protein metabolism and gene expression in skeletal muscle of critically ill patients with sepsis. *Clinical Science*, 122(3), 133-142.
- Klein, K. A., Clark, C., Allen, A. L. (2002). Hypoglycemia in sick and moribund farmed elk calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(10), 778.
- Klunker, L. R., Kahlert, S., Panther, P., Diesing, A. K., Reinhardt, N., Brosig, B., ... Kluess, J. W. (2013). Deoxynivalenol and *E. coli* lipopolysaccharide alter epithelial proliferation and spatial distribution of apical junction proteins along the small intestinal axis. *Journal of Animal Science*, 91(1), 276-285.
- Krentz, T. ve Allen, S. (2017). Bacterial translocation in critical illness. *Journal of Small Animal Practice*, 58(4), 191–198.
- Kuiken, N. S., Rings, E. H., Blijlevens, N. M., Tissing, W. J. (2017). Biomarkers and non-invasive tests for gastrointestinal mucositis. *Supportive Care in Cancer*, 25(9), 2933-2941.
- Kumar, R. ve Kumar Malik, J. (2001). Effects of multiple injections of Escherichia coli endotoxin on the pharmacokinetics and dosage regimens of a long acting formulation of oxytetracycline (OTC-LA) in cross-bred calves. *Veterinarski Arhiv*, 71(5), 245-263.

- Kushibiki, S., Shingu, H., Kawasaki, R., Komatsu, T., Itoh, F., Watanabe, A., ... Hodate, K. (2008). Effect of bovine lactoferrin feeding on lipopolysaccharide-induced metabolic and hormonal disturbances in preruminant calves. *Animal Science Journal*, 79(3), 375-381.
- Lallès, J. P. (2010). Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet. *Nutrition Reviews*, 68(6), 323-332.
- Lallès, J. P. (2014). Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects. *Nutrition Reviews*, 72(2), 82-94.
- Lardner, A. (2001). The effects of extracellular pH on immune function. *Journal of Leukocyte Biology*, 69(4), 522-30.
- Lau, T., Owen, W., Yu, Y. M., Noviski, N., Lyons, J., Zurakowski, D., ... Castillo, L. (2000). Arginine, citrulline, and nitric oxide metabolism in end-stage renal disease patients. *The Journal of Clinical Investigation*, 105(9), 1217-1225.
- Levy, M. M., Fink, M. P., Marshall, J. C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., ... Ramsay, G. (2003). 2001 sccm/esicm/accp/ats/sis international sepsis definitions conference. *Critical Care Medicine*, 31(4), 1250-1256.
- Liu, W., Hu, D., Huo, H., Zhang, W., Adiliaghdam, F., Morrison, S., ... Hodin, R. A. (2016). Intestinal alkaline phosphatase regulates tight junction protein levels. *Journal of the American College of Surgeons*, 222(6), 1009-1017.
- Liu, Y., Chen, F., Odle, J., Lin, X., Jacobi, S. K., Zhu, H., ... Hou, Y. (2012). Fish oil enhances intestinal integrity and inhibits TLR4 and NOD2 signaling pathways in weaned pigs after LPS challenge. *The Journal of Nutrition*, 142(11), 2017-2024.
- Lofstedt, J., Dohoo, I. R., Duizer, G. (1999). Model to predict septicemia in diarrheic calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13(2), 81-88.
- Łoniewska, B., Węgrzyn, D., Adamek, K., Kaczmarczyk, M., Skonieczna-Żydecka, K., Adler, G., ... Łoniewski, I. (2019). The influence of maternal-foetal parameters on concentrations of zonulin and calprotectin in the blood and stool of healthy newborns

- during the first seven days of life. An observational prospective cohort study. *Journal of Clinical Medicine*, 8(4), 473.
- Lu, Y. C., Yeh, W. C., Ohashi, P. S. (2008). LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*, 42(2), 145-151.
- Luiking, Y. C., Poeze, M., Ramsay, G., Deutz, N. E. (2009). Reduced citrulline production in sepsis is related to diminished de novo arginine and nitric oxide production. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(1), 142-152.
- Lupp, C., Robertson, M. L., Wickham, M. E., Sekirov, I., Champion, O. L., Gaynor, E. C., Finlay, B. B. (2007). Host-Mediated Inflammation Disrupts the Intestinal Microbiota and Promotes the Overgrowth of Enterobacteriaceae. *Cell Host and Microbe*, 2(2), 119–129. doi: 10.1016/j.chom.2007.06.010.
- Macintire, D. K. ve Bellhorn, T. L. (2002). Bacterial translocation: Clinical implications and prevention. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 32(5), 1165–43 1178.
- Malo, M. S., Alam, S. N., Mostafa, G., Zeller, S. J., Johnson, P. V., Mohammad, N., ... Hodin, R. A. (2010). Intestinal alkaline phosphatase preserves the normal homeostasis of gut microbiota. *Gut*, 59(11), 1476-1484.
- Malo, M. S., Moaven, O., Muhammad, N., Biswas, B., Alam, S. N., Economopoulos, K. P., ... Hodin, R. A. (2014). Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 306(10), G826-G838.
- Mao, S., Zhang, R., Wang, D., Zhu, W. (2012). The diversity of the fecal bacterial community and its relationship with the concentration of volatile fatty acids in the feces during subacute rumen acidosis in dairy cows. *BMC Veterinary Research*, 8, 1-13.
- Martinez, E. E., Mehta, N. M., Fasano, A. (2022). The zonulin pathway as a potential mediator of gastrointestinal dysfunction in critical illness. *Pediatric Critical Care Medicine*, 23(9), e424-e428.

- Matsumoto, S., Sekine, K., Funaoka, H., Yamazaki, M., Shimizu, M., Hayashida, K., Kitano, M. (2014). Diagnostic performance of plasma biomarkers in patients with acute intestinal ischaemia. *Journal of British Surgery*, 101(3), 232-238.
- McConachie, E. L., Hart, K. A. (2016). Inflammation, endotoxemia and systemic inflammatory response syndrome. *Equine Clinical Immunology*, 153-172.
- Meineri, G., Martello, E., Atuahene, D., Miretti, S., Stefanon, B., Sandri, M., ... Coccolin, L. S. (2022). Effects of *Saccharomyces boulardii* Supplementation on Nutritional Status, Fecal Parameters, Microbiota, and Mycobiota in Breeding Adult Dogs. *Veterinary Sciences*, 9(8), 389.
- Michaeli, B., Martinez, A., Revelly, J. P., Cayeux, M. C., Chioléro, R. L., Tappy, L., Berger, M. M. (2012). Effects of endotoxin on lactate metabolism in humans. *Critical Care*, 16, 1-11.
- Michaels, F. H. ve Banks, K. L. (1988). Contribution of various host factors to resistance to experimentally induced bacterial endotoxemia in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 49(4), 557-562.
- Mittal, R. ve Coopersmith, C. M. (2014). Redefining the gut as the motor of critical illness. *Trends in Molecular Medicine*, 20(4), pp. 214–223
- Moonen, P. J., Blaser, A., Starkopf, J., Oudemans-van Straaten, H., Van der Mullen, J., Vermeulen, G., & Malbrain, M. (2018). The black box revelation: monitoring gastrointestinal function. *Anaesthesiology Intensive Therapy*, 50(1).
- Moron, R., Galvez, J., Colmenero, M., Anderson, P., Cabeza, J., Rodriguez-Cabezas, M. E. (2019). The importance of the microbiome in critically ill patients: Role of nutrition. *Nutrients*, 11(12), 1–17.
- Morris, D. D. (1991). Endotoxemia in horses: a review of cellular and humoral mediators involved in its pathogenesis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5(3), 167-181.
- Moshage, H. (1997). Cytokines and the hepatic acute phase response. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 181(3), 257-266.

- Nagaraja, T. G., Bartley, E. E., Anthony, H. D., Leipold, H. W., Fina, L. R. (1979). Endotoxin shock in calves from intravenous injection of rumen bacterial endotoxin. *Journal of Animal Science*, 49(2), 567-582.
- Nakano, T., Inoue, I., Alpers, D. H., Akiba, Y., Katayama, S., Shinozaki, R., ... Komoda, T. (2009). Role of lysophosphatidylcholine in brush-border intestinal alkaline phosphatase release and restoration. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 297(1), G207-G214.
- Nébot-Vivinus, M., Harkat, C., Bziouche, H., Cartier, C., Plichon-Dainese, R., Moussa, L., ... Theodorou, V. (2014). Multispecies probiotic protects gut barrier function in experimental models. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(22), 6832.
- Noordally, S. O., Sohawon, S., Semlali, H., Michely, D., Devriendt, J., Gottignies, P. (2012). Is there a correlation between circulating levels of citrulline and intestinal dysfunction in the critically ill?. *Nutrition in Clinical Practice*, 27(4), 527-532.
- Ockner, R. K. ve Manning, J. A. (1974). Fatty acid-binding protein in small intestine identification, isolation, and evidence for its role in cellular fatty acid transport. *The Journal of Clinical Investigation*, 54(2), 326-338.
- O'Dwyer, S. T., Michie, H. R., Ziegler, T. R., Revhaug, A., Smith, R. J., Wilmore, D. W. (1988). A single dose of endotoxin increases intestinal permeability in healthy humans. *Archives of Surgery*, 123(12), 1459-1464.
- Ohlsson, B., Orho-Melander, M., Nilsson, P. M. (2017). Higher levels of serum zonulin may rather be associated with increased risk of obesity and hyperlipidemia, than with gastrointestinal symptoms or disease manifestations. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 582.
- Ohlsson, B., Roth, B., Larsson, E., Höglund, P. (2017). Calprotectin in serum and zonulin in serum and feces are elevated after introduction of a diet with lower carbohydrate content and higher fiber, fat and protein contents. *Biomedical Reports*, 6(4), 411-422.
- Ohtsuka, H., Higuchi, T., Matsuzawa, H., Sato, H., Takahashi, K., Takahashi, J., Yoshino, T. O. (1997). Inhibitory effect on LPS-induced tumor necrosis factor in calves treated with

chlorpromazine or pentoxifylline. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59(11), 1075-1077.

- Ohtsuka, H., Ohki, K., Tanaka, T., Tajima, M., Yoshino, T., Takahashi, K. (1997). Circulating tumor necrosis factor and interleukin-1 after administration of LPS in adult cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59(10), 927-929.
- Ok, M., Yildiz, R., Hatipoglu, F., Baspinar, N., Ider, M., Üney, K., ... Terzi, F. (2020). Use of intestine-related biomarkers for detecting intestinal epithelial damage in neonatal calves with diarrhea. *American Journal of Veterinary Research*, 81(2), 139-146.
- Olson, N. C., Hellyer, P. W., Dodam, J. R. (1995). Mediators and vascular effects in response to endotoxin. *British Veterinary Journal*, 151(5), 489-522.
- Paape, M., Mehrzad, J., Zhao, X., Detilleux, J., Burvenich, C. (2002). Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7, 109-121.
- Pan, L., Wang, X., Li, W., Li, N., Li, J. (2010). The intestinal fatty acid binding protein diagnosing gut dysfunction in acute pancreatitis: a pilot study. *Pancreas*, 39(5), 633-638.
- Pardon, B. ve Deprez, P. (2018). Rational antimicrobial therapy for sepsis in cattle in face of the new legislation on critically important antimicrobials. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 87(1), 37-46.
- Pardon, B., De Bleecker, K., Hostens, M., Callens, J., Dewulf, J., Deprez, P. (2012). Longitudinal study on morbidity and mortality in white veal calves in Belgium. *BMC Veterinary Research*, 8, 1-15.
- Pearce, S. C., Mani, V., Boddicker, R. L., Johnson, J. S., Weber, T. E., Ross, J. W., ... Gabler, N. K. (2013). Heat stress reduces intestinal barrier integrity and favors intestinal glucose transport in growing pigs. *PloS One*, 8(8), e70215.
- Pecchi, E., Dallaporta, M., Jean, A., Thirion, S., Troadec, J. D. (2009). Prostaglandins and sickness behavior: old story, new insights. *Physiology Behavior*, 97(3-4), 279-292.

- Pelsers, M. M., Hermens, W. T., Glatz, J. F. (2005). Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury. *Clinica Chimica Acta*, 352(1-2), 15-35.
- Peñailillo, A. K., Sepulveda, M. A., Palma, C. J., Espinoza, A., Aguilera, M., Burgos, R. A., ... Pérez, R. (2016). Haematological and blood biochemical changes induced by the administration of low doses of *Escherichia coli* lipopolysaccharide in rabbits. *Archivos De Medicina Veterinaria*, 48(3), 315-320.
- 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.
- Peri, F., Piazza, M., Calabrese, V., Damore, G., Cighetti, R. (2010). Exploring the LPS/TLR4 signal pathway with small molecules. *Biochemical Society Transactions*, 38(5), 1390-1395.
- Piton, G. ve Capellier, G. (2016). Biomarkers of gut barrier failure in the ICU. *Current Opinion in Critical Care*, 22(2), 152-160.
- Piton, G., Belon, F., Cypriani, B., Regnard, J., Puyraveau, M., Manzon, C., ... Capellier, G. (2013). Enterocyte damage in critically ill patients is associated with shock condition and 28-day mortality. *Critical Care Medicine*, 41(9), 2169-2176.
- Piton, G., Manzon, C., Monnet, E., Cypriani, B., Barbot, O., Navellou, J. C., ... Capellier, G. (2010). Plasma citrulline kinetics and prognostic value in critically ill patients. *Intensive Care Medicine*, 36, 702-706.
- Plessers, E., Wyns, H., Watteyn, A., Pardon, B., De Backer, P., Croubels, S. (2015). Characterization of an intravenous lipopolysaccharide inflammation model in calves with respect to the acute-phase response. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 163(1-2), 46-56.
- Post, E. H., Kellum, J. A., Bellomo, R., Vincent, J. L. (2017). Renal perfusion in sepsis: from macro-to microcirculation. *Kidney International*, 91(1), 45-60.



- Prattes, J., Raggam, R. B., Vanstraelen, K., Rabensteiner, J., Hoegenauer, C., Krause, R., ... Hoenigl, M. (2016). Chemotherapy-induced intestinal mucosal barrier damage: a cause of falsely elevated serum 1, 3-beta-d-glucan levels?. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(3), 798-801.
- Preas, H. L., Jubran, A., Vandivier, R. W., Reda, D., Godin, P. J., Banks, S. M., ... Suffredini, A. F. (2001). Effect of endotoxin on ventilation and breath variability: role of cyclooxygenase pathway. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164(4), 620-626.
- Puleo, F., Arvanitakis, M., Van Gossum, A., Preiser, J. C. (2011). Gut failure in the ICU. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 32(5), 626–638.
- Raetz, C.R. ve Whitfield, C., (2002). Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual Review of Biochemistry*, 71, 635-700.
- Rahman, S. H., Ammori, B. J., Holmfield, J., Larvin, M., McMahon, M. J. (2003). Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 7(1), 26-36.
- Redl, H., Bahrami, S., Schlag, G., Traber, D. L. (1993). Clinical detection of LPS and animal models of endotoxemia. *Immunobiology*, 187(3-5), 330-345.
- Rietschel, E. T., Kirikae, T., Schade, F. U., Mamat, U., Schmidt, G., Loppnow, H., ... Brade, H. (1994). Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *The FASEB Journal*, 8(2), 217-225.
- Rossi, G., Gavazza, A., Vincenzetti, S., Mangiaterra, S., Galosi, L., Marchegiani, A., ... Cerquetella, M. (2021). Clinicopathological and fecal proteome evaluations in 16 dogs presenting chronic diarrhea associated with lymphangiectasia. *Veterinary Sciences*, 8(10), 242.
- Ruan, Z., Liu, S., Zhou, Y., Mi, S., Liu, G., Wu, X., ... Yin, Y. (2014). Chlorogenic acid decreases intestinal permeability and increases expression of intestinal tight junction proteins in weaned rats challenged with LPS. *PLoS one*, 9(6), e97815.

- Rutledge, H. R., Jiang, W., Yang, J., Warg, L. A., Schwartz, D. A., Pisetsky, D. S., Yang, I. V. (2012). Gene expression profiles of RAW264. 7 macrophages stimulated with preparations of LPS differing in isolation and purity. *Innate immunity*, 18(1), 80-88.
- Sacoer, C., Barros, L. M., Montezinho, L. (2020). What are the potential biomarkers that should be considered in diagnosing and managing canine chronic inflammatory enteropathies? *Open Veterinary Journal*, 10(4), 412-430.
- Santos, G. M., Ismael, S., Morais, J., Araújo, J. R., Faria, A., Calhau, C., Marques, C. (2022). Intestinal alkaline phosphatase: A review of this enzyme role in the intestinal barrier function. *Microorganisms*, 10(4), 746.
- Sapone, A., De Magistris, L., Pietzak, M., Clemente, M. G., Tripathi, A., Cucca, F., ... Fasano, A. (2006). Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes*, 55(5), 1443-1449.
- Scheffler, L., Crane, A., Heyne, H., Tönjes, A., Schleinitz, D., Ihling, C. H., ... Heiker, J. T. (2018). Widely used commercial ELISA does not detect precursor of haptoglobin2, but recognizes properdin as a potential second member of the zonulin family. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 22.
- Schletter, J., Heine, H., Ulmer, A. J., Rietschel, E. T. (1995). Molecular mechanisms of endotoxin activity. *Archives of Microbiology*, 164, 383-389.
- Sharma, U., Pal, D., Prasad, R. (2014). Alkaline phosphatase: an overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29, 269-278.
- Shen, L. J., Guan, Y. Y., Wu, X. P., Wang, Q., Wang, L., Xiao, T., ... Wang, J. G. (2015). Serum citrulline as a diagnostic marker of sepsis-induced intestinal dysfunction. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 39(2), 230-236.
- Shi, H., Wu, B., Wan, J., Liu, W., Su, B. (2015). The role of serum intestinal fatty acid binding protein levels and D-lactate levels in the diagnosis of acute intestinal ischemia. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 39(3), 373-378.
- Shin, J., Carr, A., Corner, G. A., Tögel, L., Dávaos-Salas, M., Tran, H., ... Mariadason, J. M. (2014). The intestinal epithelial cell differentiation marker intestinal alkaline phosphatase

(ALPi) is selectively induced by histone deacetylase inhibitors (HDACi) in colon cancer cells in a Kruppel-like factor 5 (KLF5)-dependent manner. *Journal of Biological Chemistry*, 289(36), 25306-25316.

Shin, S., Jeong, H. M., Chung, S. E., Kim, T. H., Thapa, S. K., Song, C. H., ... Shin, B. S. (2019). Simultaneous analysis of acetylcarnitine, proline, hydroxyproline, citrulline, and arjinine as potential plasma biomarkers to evaluate NSAIDs-induced gastric injury by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 165, 101-111.

Singer, M., Deutschman, C. S., Seymour, C. W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., ... Angus, D. C. (2016). The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *Journal of the American Medical Association*, 315(8), 801-810.

Singh, P., Silvester, J., Chen, X., Xu, H., Sawhney, V., Rangan, V., ... Lembo, A. (2019). Serum zonulin is elevated in IBS and correlates with stool frequency in IBS-D. *United European Gastroenterology Journal*, 7(5), 709-715.

Smedegård, G., Cui, L. X., Hugli, T. E. (1989). Endotoxin-induced shock in the rat. A role for C5a. *The American Journal of Pathology*, 135(3), 489.

Steiger, M., Senn, M., Altreuther, G., Werling, D., Sutter, F., Kreuzer, M., Langhans, W. (1999). Effect of a prolonged low-dose lipopolysaccharide infusion on feed intake and metabolism in heifers. *Journal of Animal Science*, 77(9), 2523-2532.

Sturgeon, C. ve Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*, 4(4), e1251384.

Sultana, H., Inada, M., Wadud, S., Takahashi, T., Morita, T., Onodera, R. (2003). A quantitative study on arjinine synthesis from arjininosuccinic acid and citrulline by crude enzymes of cattle kidney. *Animal Science Journal*, 74(4), 289-294.

Şen, İ. ve Coşkun, A. (2008). Lipopolisakkarid (*E.Coli*) ile Deneysel Olarak Endotoksemi Oluşturulan Buzağılarda Akut Faz Proteinlerin Klinik Teşhisteki Önemi. *Tübitak Proje Sonuç Raporu*. Proje no: 106O254

- Tamaki, S., Sato, T., Matsushashi, M. (1971). Role of lipopolysaccharides in antibiotic resistance and bacteriophage adsorption of *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*, 105(3), 968-975.
- Tatucu-Babet, O. A., Forsyth, A., Owen, E., Navarro-Perez, D., Radcliffe, J., Benheim, D., ... Tierney, A. C. (2020). Serum zonulin measured by enzyme-linked immunosorbent assay may not be a reliable marker of small intestinal permeability in healthy adults. *Nutrition Research*, 78, 82-92.
- Timmermans, K., Sir, Ö., Kox, M., Vaneker, M., de Jong, C., Gerretsen, J., ... Pickkers, P. (2015). Circulating iFABP Levels as a marker of intestinal damage in trauma patients. *Shock*, 43(2), 117-120.
- Tomlinson, J. E. ve Blikslager, A. T. (2004). Interactions between lipopolysaccharide and the intestinal epithelium. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(9), 1446-1452.
- Tothova, C. S., Nagy, O., Kovac, G. (2014). Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: a review. *Veterinárni Medicína*, 59(4), 163-180.
- Trefz, F. M., Feist, M., Lorenz, I. (2016). Hypoglycaemia in hospitalised neonatal calves: Prevalence, associated conditions and impact on prognosis. *The Veterinary Journal*, 217, 103-108.
- Tripathi, A., Lammers, K. M., Goldblum, S., Shea-Donohue, T., Netzel-Arnett, S., Buzza, 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.
- Ulich, T. R., del Castillo, J., Guo, K., Souza, L. (1989). The hematologic effects of chronic administration of the monokines tumor necrosis factor, interleukin-1, and granulocyte-colony stimulating factor on bone marrow and circulation. *The American Journal of Pathology*, 134(1), 149.
- Ural, D. A. (2022). Heat Stress and Seasonal Dissipation of Circulating Zonulin Levels Among Calves in Aydın Region. *International Journal of Veterinary and Animal Research (IJVAR)*, 5(2), 47-49.

- Ural, D. A. (2022). Zonulin as a noninvasive selected biomarker of gut barrier function identify and debug calves suffering from diarrhea. *International Journal of Veterinary and Animal Research (IJVAR)*, 5(3), 159-161.
- Uyanga, V. A., Amevor, F. K., Liu, M., Cui, Z., Zhao, X., Lin, H. (2021). Potential implications of citrulline and quercetin on gut functioning of monogastric animals and humans: a comprehensive review. *Nutrients*, 13(11), 3782.
- Van Amersfoort, E. S., Van Berkel, T. J., Kuiper, J. (2003). Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 379-414.
- van de Poll, M. C., Derikx, J. P., Buurman, W. A., Peters, W. H., Roelofs, H. M., Wigmore, S. J., Dejong, C. H. (2007). Liver manipulation causes hepatocyte injury and precedes systemic inflammation in patients undergoing liver resection. *World Journal of Surgery*, 31, 2033-2038.
- Van Deventer, S. J., Buller, H. R., ten Cate, J. W., Aarden, L. A., Hack, C. E., Sturk, A. (1990). Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways.
- Van Lambalgen, A. A., Rasker, M. T. E., Van Den Bos, G. C., Thijs, L. G. (1988). Effects of endotoxemia on systemic plasma loss and hematocrit in rats. *Microvascular Research*, 36(3), 291-304.
- Van Miert, A. (1995). Pro-inflammatory cytokines in a ruminant model: Pathophysiological, pharmacological, and therapeutic aspects. *Veterinary Quarterly*, 17(2), 41-50.
- Vanuytsel, T., Vermeire, S., Cleynen, I. (2013). The role of Haptoglobin and its related protein, Zonulin, in inflammatory bowel disease. *Tissue Barriers*, 1(5), e27321.
- Vojdani, A., Vojdani, E., Kharrazian, D. (2017). Fluctuation of zonulin levels in blood vs stability of antibodies. *World Journal of Gastroenterology*, 23(31), 5669.
- 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.

- Watkins, L. R., Wiertelak, E. P., Goehler, L. E., Smith, K. P., Martin, D., Maier, S. F. (1994). Characterization of cytokine-induced hyperalgesia. *Brain Research*, 654(1), 15-26.
- Werling, D., Sutter, F., Arnold, M., Kun, G., Tooten, P. C. J., Gruys, E., ... Langhans, W. (1996). Characterisation of the acute phase response of heifers to a prolonged low dose infusion of lipopolysaccharide. *Research in Veterinary Science*, 61(3), 252-257.
- Whitehead, K., Cortes, Y., Eirmann, L. (2016). Gastrointestinal dysmotility disorders in critically ill dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 26(2), 234–253. doi: 10.1111/vec.12449.
- Wijnands, K. A., Castermans, T. M., Hommen, M. P., Meesters, D. M., Poeze, M. (2015). Arginine and citrulline and the immune response in sepsis. *Nutrients*, 7(3), 1426-1463.
- Williams, J. M., Duckworth, C. A., Watson, A. J., Frey, M. R., Miguel, J. C., Burkitt, M. D., ... Pritchard, D. M. (2013). A mouse model of pathological small intestinal epithelial cell apoptosis and shedding induced by systemic administration of lipopolysaccharide. *Disease Models Mechanisms*, 6(6), 1388-1399.
- Wittek, T. ve Constable, P. D. (2005). Assessment of the effects of erythromycin, neostigmine, and metoclopramide on abomasal motility and emptying rate in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 66(3), 545-552.
- Wu, G., Bazer, F. W., Cudd, T. A., Jobgen, W. S., Kim, S. W., Lassala, A., ... Spencer, T. E. (2007). Pharmacokinetics and safety of arginine supplementation in animals. *The Journal of Nutrition*, 137(6), 1673S-1680S.
- Xie, F., Jin, W., Si, H., Yuan, Y., Tao, Y., Liu, J., ... Mao, S. (2021). An integrated gene catalog and over 10,000 metagenome-assembled genomes from the gastrointestinal microbiome of ruminants. *Microbiome*, 9(1), 137.
- Xiong, W., Huang, J., Li, X., Zhang, Z., Jin, M., Wang, J., ... Wang, Z. (2020). Icaritin and its phosphorylated derivatives alleviate intestinal epithelial barrier disruption caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* through modulate p38 MAPK in vivo and in vitro. *The FASEB Journal*, 34(1), 1783-1801.

- Xiong, W., Ma, H., Zhang, Z., Jin, M., Wang, J., Xu, Y., Wang, Z. (2019). Icariin enhances intestinal barrier function by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling pathways and modulating gut microbiota in a piglet model. *RSC Advances*, 9(65), 37947.
- Yandrapu, H. ve Sarosiek, J. (2015). Protective factors of the gastric and duodenal mucosa: an overview. *Current Gastroenterology Reports*, 17, 1-8.
- Yildiz, R., Ok, M., Ider, M., Akar, A., Naseri, A., Koral, E. (2019). The changes in biomarkers for necrotising enterocolitis in premature calves with respiratory distress syndrome. *Veterinárni medicína*, 64(10).
- Yildiz, R., Ok, M., Ider, M., Aydogdu, U., Naseri, A., Parlak, K., Gulersoy, E. (2018). Evaluation of intestinal damage biomarkers in calves with atresia coli. *Journal of Veterinary Research*, 62(3), 379.
- Yilmaz, Z., Cansev, M., Baykal, A.T., Haçarız, O., Hatipoğlu, İ., Eralp, O., Kocatürk, M., Ulus, İ.H. (2013). Buzağı Endotoksemisinin Tanı ve Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar: Proteomik İnceleme ve İntravenöz Kolin Etkisi. *Tübitak Proje Sonuç Raporu*. Proje No: 111O026
- Zanoni, I., Bodio, C., Broggi, A., Ostuni, R., Caccia, M., Collini, M., ... Granucci, F. (2012). Similarities and differences of innate immune responses elicited by smooth and rough LPS. *Immunology Letters*, 142(1-2), 41-47.
- Zebeli, Q., Dunn, S. M., Ametaj, B. N. (2010). Strong associations among rumen endotoxin and acute phase proteins with plasma minerals in lactating cows fed graded amounts of concentrate. *Journal of Animal Science*, 88(4), 1545-1553.
- Zhu, C., Wu, Y., Jiang, Z., Zheng, C., Wang, L., Yang, X., ... Hu, Y. (2015). Dietary soy isoflavone attenuated growth performance and intestinal barrier functions in weaned piglets challenged with lipopolysaccharide. *International Immunopharmacology*, 28(1), 288-294.
- Zou, L., Song, X., Hong, L., Shen, X., Sun, J., Zhang, C., Mu, X. (2018). Intestinal fatty acid-binding protein as a predictor of prognosis in postoperative cardiac surgery patients. *Medicine*, 97(33).

# EKLER

## Ek 1 ADÜ-HADYEK



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



Aydın, 29/09/2021

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı IX. Oturum  
Sayı : 64583101/2021/136  
Proje Başlığı : Deneysel Endotoksemili Buzağılarda İntestinal Biyobelirteçlerin Değerlendirilmesi.  
Proje Yürütücüsü : Mehmet GÜLTEKİN  
Proje Ekibi : Gizem GÖNÜLVEREN

**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. Işıl ŞÖNMEZ  
Üye

Doç. Dr. Serkan BAKIRCI  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder  
ÜSTÜNDAĞ  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ  
Üye

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

Midayet YAMAN  
Serbest Vet. Hek. Üye

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

(Toplantıya katılmadı)  
Mustafa ÇOBANOĞLU  
Sivil Üye

Senay TEKİNBAŞ  
HAYTAP Üye

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



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Deneysel Endotoksemili Buzağılarda İntestinal Biyobelirteçlerin Değerlendirilmesi” başlıklı Doktora tezindeki 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.

Gizem GÖNÜLVEREN

... / ... / ...

## ÖZ GEÇMİŞ

<b>Soyadı, Adı</b>	: GÖNÜLVEREN, Gizem
<b>Uyruk</b>	: T.C.
<b>Doğum yeri ve tarihi</b>	: Kuşadası/ 01.06.1996
<b>Telefon</b>	: 0 506 473 89 55
<b>E-posta</b>	: gizemgonulveren@hotmail.com
<b>Yabancı dil</b>	: İngilizce

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi / Veteriner Fakültesi	2019

## İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2020 Haziran- Ağustos	Kuşadası Veteriner Kliniği	Veteriner Hekim
2021- 2023	Neonatal Buzağılarda İntravenöz ve Oral Sitrulin Uygulamalarının Farmakokinetiği ve Deneysel Endotoksemide Etkinliği – 120O638 nolu TÜBİTAK 1001 Projesi	Bursiyer

## AKADEMİK YAYINLAR

### 1. SEMİNERLER

2020 - Köpek ve Kedilerde Antikoagulan, Antitrombosit ve Fibrinolitik İlaçların Kullanımı

2021 - Kritik Hastalıklı Kedi ve Köpeklerde Gastrointestinal Disfonksiyon, Tanısal Değerlendirme ve Yönetim

### 2. MAKALELER

Gültekin M, Gönülveren G. Kritik hastalıklı kedi ve köpeklerde kan transfüzyonu. Kritik Hastalıklı Kedi ve Köpeklerde Çoklu Organ Yetmezliğine Yaklaşım. 1. Baskı. Ankara: *Türkiye Klinikleri*; 2020. p.53

Gultekin, G., Pasa, S., Ural, K., Erdogan, H., Gonulveren, G., Gultekin, M. (2023). Arginine, symmetric and asymmetric dimethylarginine levels in canine leishmaniasis. *Microbial Pathogenesis*, 178, 106085.

Balıkçı, C., Ural, K., Erdoğan, H., Gönülveren, G., Gültekin, M. (2023) Aydın İlinde Akut İshalli Neonatal Buzağılarda Enteropatojenlerin Prevalansının Araştırılması. *Kocatepe Veterinary Journal*, 16(3), 410-419.