

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

**SAĞLIKLI VE KALP HASTALIKLI KÖPEKLERDE KALP KÖKENLİ
TROPONİN DÜZEYLERİ İLE YAŞ VE IRK FAKTÖRÜNÜN BU
PARAMETRE ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Proje No: VA-06-10

Normal Araştırma Projesi (NAP)

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Doç. Dr. Vehbi GÜNEŞ
Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Proje Ekibi:

Prof. Dr. Fatma UYANIK
Doç. Dr. Meryem EREN
Doç. Dr. Murat KİBAR
Yrd. Doç. Dr. Öznur ASLAN
Yrd. Doç. Dr. Ali Cesur ONMAZ

Kasım 2010

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Projenin hazırlanma aşamasıyla birlikte, ilk proje ekibinde yer alan, kontrol grubu köpeklerinin kanlarının toplanmasında görev alıp, bizlere moral ve destek olan, dürüstlüğü ve çalışkan kişiliğiyle hepimize örnek olan ve bu projeyi birlikte tamamlayamadan, genç yaşta aramızdan ayrılan değerli meslektaşım **Doç. Dr. Yücel ÇAM**'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Ruhu şad, mekânı cennet olsun.

Ayrıca, bu projeyi destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine Kardiyak Troponin-T analizlerini yaptırılmasını sağlayan Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında görevli Dr. Süleyman SARIGÖKALP'e, deneme ve analiz aşamalarından itibaren tüm proje ekibi başta olmak üzere projeye katkıları olan tüm kişi ve kurumlara teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
BOŞ SAYFA	2
TEŞEKKÜR	3
İÇİNDEKİLER	4
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	6
KISALTMALAR	8
ÖZET	9
ABSTRACT	10
1. GİRİŞ VE AMAÇ	11
2. GENEL BİLGİLER	14
2.1. KÖPEKLERDE KALP HASTALIKLARI.....	14
2.1.1. Kalp Kapağı (Valvüler) Hastalıkları	14
2.1.1.1. Mitral Kapak Endokardiyozisi.....	15
2.1.1.2. Bakteriyel Endokarditis.....	16
2.1.2. Kardiyak Aritmiler – Disritmia.....	17
2.1.3. Myokard Hastalıkları (Kardiyomyopatiler)	18
2.1.3.1. Kalp Dilatasyonu.....	18
2.1.3.2. Kalp Hipertrofisi.....	18
2.1.3.3. Kalp kası yangısı / dejenerasyonu (Myokarditis - Myokardoz) .	19
2.2. VETERİNER HEKİMLİĞİNDE KALP KÖKENLİ TROPONİNLERİN ÖNEMİ	20
2.2.1. Giriş	20
2.2.2. Troponinlerin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	21
2.2.3. Troponin Analizlerinin Önemi.....	21
2.2.3.1. Kardiyak Troponin-I.....	22
2.2.3.2. Kardiyak Troponin-T	22
2.2.4. Veteriner Hekimlikte Kardiyak Troponinlerin Diagnostik Önemi	23

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. ARAŞTIRMADA KULLANILAN ARAÇ GEREÇ, KİMYASAL MADDELER VE MALZEMELER.....	26
3.2. ARAŞTIRMADA KULLANILAN HAYVANLAR/HAYVAN MATERYALİ	28
3.3. ANAMNEZİN ALINMASI	29
3.4. KLİNİK MUAYENE	29
3.5. RADYOLOJİK, ELEKTROKARDİYOĞRAFİK VE EKOKARDİYOĞRAFİK ANALİZLER.....	29

Sayfa no

3.6. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI:	30
3.7. KALP TROPONİNLERİ VE BİYOKİMYASAL ANALİZLER	30
3.7.1. Pratik Kardiyak Testlerin Değerlendirilmesi	30
3.7.2. cTn I ve cTn T Konsantrasyonlarının Analizleri.....	31
3.7.2.1. cTn-I Analiz Prensipi.....	31
3.7.2.1. cTn-I Analiz Prosedürü.....	31
3.7.3. cTn-T Konsantrasyonlarının Analizleri.....	32
3.7.3.1. cTn-T Analiz Prensipi.....	32
3.7.4. Biyokimyasal Analizler.....	32
3.7.5. İstatistiksel Analizler	32
4. BULGULAR.....	34
4.1. HEMATOLOJİK VE KAN GAZLARI ANALİZ SONUÇLARI.....	34
4.2. SERUM BİYOKİMYA ANALİZİ SONUÇLARI.....	34
4.3. HASTALARIN DAĞILIMI VE PRATİK KARDİYAK TROPONİN KİT SONUÇLARI.....	40
4.4. RADYOLOJİ BULGULARI.....	52
4.5. EKOKARDİYOĞRAFİ BULGULARI	55
4.6. ELEKTROKARDİYOĞRAFİ BULGULARI.....	63
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	66
6. KAYNAKLAR.....	76

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 4.1.	Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde Ortalama Hematolojik veriler (I)	35
Tablo 4.2.	Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde Ortalama kan gazı ve elektrolit düzeyleri (II) .	36
Tablo 4.3.	Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde ortalama kan gazı ve elektrolit düzeyleri (III)..	37
Tablo 4.4.	Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde ortalama biyokimyasal parametrelerin düzeyleri (I).....	38
Tablo 4.5.	Tablo 4.4. Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde ortalama biyokimyasal parametrelerin düzeyleri (II).....	39
Tablo 4.6.	Solunum sistemi hastalıkları ve pratik cTn sonuçları	40
Tablo 4.7.	Sindirim sistemi hastalıkları ve pratik cTn sonuçları	40
Tablo 4.8.	Kardiyovasküler sistem hastalıkları ve pratik cTn sonuçları.....	41
Tablo 4.9.	Farklı yaş gruplarına ait ortalama cTn I ve cTn T konsantrasyonları	49
Tablo 4.10.	Gruplara ait ortalama cTn I ve cTn T konsantrasyonları	50
Tablo 4.11.	Farklı yaş gruplarına ait ortalama T4 ve T3 konsantrasyonları	51
Tablo 4.12.	Çalışma gruplarına ait ortalama T4 ve T3 konsantrasyonları	52
Şekil 4.1.	14 yaşlı kanlı ishal ve kanlı kusma şikayetleri (Hemorajik gastroenterit) olan bir terierde üstte pozitif cTn T, altta pozitif cTn I (Okuma pencerelerinde çift hat).....	42
Şekil 4.2.	Dilatekardiyomyopati 4 yaşlı kangal ırkı bir köpeğin nekropsi bulgusu: siyah oklar göğüs boşluğunda sıvı birikimini göstermektedir	42
Şekil 4.3.	Dilatekardiyomyopati 4 yaşlı kangal ırkı bir köpeğin nekropsi bulgusu: siyah ok perikard boşluğunda sıvı birikimini göstermektedir. Kalpte belirgin büyüme ve yuvarlaklaşma.....	43

Şekil 4.4.	Dilatekardiyomyopati 4 yaşlı kangal ırkı köpekte cTn bulguları: Siyah ok belirsiz cTn pozitif, çok düşük düzeyde artışı ifade etmektedir (Üstteki resim), cTn I negatif (Alttaki resim).....	43
Şekil 4.5.	Distemperli bir köpekten elde edilen pozitif cTn I bulgusu.....	44
Şekil 4.6.	Distemperli bir köpekten elde edilen pozitif cTn I bulgusu Şekil 4.5 deki Test hattından (T) daha açık hat. Konsantrasyonun daha az olduğunun göstergesidir.....	44
Şekil 4.7.	Sindirim sistemi enfeksiyonu belirlenen bir köpekte belirsiz test hattı şüpheli bulgu.	45
Şekil 4.8.	Solunum güçlüğü ve yorulma belirtileri bulunan hafif DCM'li bir köpekte pozitif cTn T bulgusu.....	45
Şekil 4.9.	Pnömotoraks ve asitesli bir köpeğe ait pratik kit sonuçları her ikisi de negatif (H 30)	46
Şekil 4.10.	Rhinitis, Tracheitis, Bronchopneumoni bulunan ve Distemper belirlenen bir köpekte pozitif cTn I (Üste) ve negatif cTn T (Altta) (H 31).....	46
Şekil 4.11.	CPV enfeksiyonlu köpeğe ait pratik kit fotoğrafları her ikisi de pozitif (H9).....	47
Şekil 4.12.	CPV enfeksiyonlu köpeğe ait kalp nekropsi bulgusu, endokarda kanama (H9).....	47
Şekil 4.13.	CPV enfeksiyonlu köpeğe ait Sol ventrikul epikarda myokarditis (H9)	48

Sayfa no

Şekil 4.14.	Kalp yetmezliği ve Sağ kalpte büyüme belirlenen bir köpekte pozitif cTn T (Üste) ve negatif cTn I (Altta). Bu köpekte CK ve Üre düzeyleri yüksek bulunmuştur (H 51).....	48
Şekil 4.15.	Bir kontrol grubu köpeğinden elde edilen negatif cTn T bulgusu	49
Şekil 4.16.	Bir kontrol grubu köpeğinden elde edilen negatif cTn I bulgusu.....	49
Şekil 4.17.	Dilatekardiyomyopati bir köpeğin Lateral radyografi. Kalbin sınırlarında yuvarlanma, kalp silüetinde generalize genişleme, toraksın dorsale deviasyonu, posteröör sınırın dikleşmesi. Toraksta detay kaybı, pleural efüzyon.....	52
Şekil 4.18.	Dilatekardiyomyopati konjestif kalp yetmezliği bulunan Kangal ırkı bir köpeğin Lateral radyografi. Pleural efüzyon, göğüs boşluğunda yaygın radyoopasite, detay kaybı	52
Şekil 4.19.	Ventriküler dilatasyon bulunan bir köpeğin Lateral radyografi. Çift taraflı ventriküler hipertrofi; kalp göğüs boşluğunun 2/3 den daha fazla bir alanı kaplamaktadır. Bronkopnömoni tablosu	53
Şekil 4.20.	Sağ kalpte dilatasyon bulunan bir köpeğin Lateral radyografi.: Kalbin posteröör yüzünde kese oluşumu. Pulmoner venöz konjesyon.....	53
Şekil 4.21.	Pnömotorakslı bir köpeğin lateral (A) ve Dorsoventral (B) görüntüleri. (A): kalbin ventral yüzünün sternal duvardan ayrılması, (B): kalbin göğüs boşluğu içinde asimetrik pozisyonu ve kollabe olmuş akciğer görülmektedir.....	54
Şekil 4.22.	(A) 9 Yaşlı cTn-I pozitif, cTn-T negatif belirlenen bir dişi Terierde M-mod ekokardiogram bulguları, sistol sonu sol ventrikül arka duvar kalınlığı 0,86 cm. (B) Aynı köpeğin, pulmoner kapak doppler trase bulguları (PW Doppler). (C) Aynı köpeğin, sol kısa eksen görüntüsünde 2. Derece mitral kapak yetmezliğinde (ok işareti) MW Doppler bulguları. (D) Aort kapağı düzeyinde bir miktar artmış akım örneği	56

Şekil 4.23.	(A,B) Dilatekardiyomyopati 3 yaşlı bir köpekte 2D ekokardiyografi bulguları, plöral efüzyon ve kalpte genişleme (C,D) M Mod Ekokardiyografi bulguları; genişlemiş sol ventrikül boşluğu izlenmektedir. (E,F) Aynı köpekte PW trase bulguları. (G,H,I) Renkli Doppler bulguları	59
Şekil 4.24.	10 yaşlı erkek kangal köpeğinde atriyoventriküler ve pulmoner kapak yetmezliklerine ait renkli Doppler bulguları.....	60
Şekil 4.25.	(A,B, C, D, E) 4 yaşlı dişi bir köpekte Perikardiyal efüzyon ve mitral kapakta hiperekstenite bulguları. (F,G) Diyastolik yetmezliğe ait PW Doppler traseleri (H, I) LA/AO oranı ve sol ventrikül düzeyi M mod ekokardiyografi bulgusu. (J) Pulmoner kapak düzeyinde renkli akım bulgusu.....	63
Şekil 4.26.	EKG 1. Kalp yetmezliği hemoabdomen asites bulunan bir köpekte II derivasyon EKG bulgusu: Taşıaritmisi, R dalgasının boyunda uzama.....	63
Şekil 4.27.	EKG 2. Pleural efüzyon, sol kalpte büyüme ve cTn T negatif belirlenen bir köpekte II. derivasyon EKG bulgusu	64
Şekil 4.28.	EKG 3. Sağ atriyal büyüme, distemper. II. derivasyon EKG bulgusu, P dalgası amplitüdünde artma.....	64
Şekil 4.29.	EKG 4. Sağventriküler hipertrofi, R dalgasında uzama	64
Şekil 4.30.	EKG 5. Parvovirüs enfeksiyonlu bir köpekte, myokard dejenerasyonu bulgusu; T dalgası amplitüdünde genişleme, uzama, taşikardi	65
Şekil 4.31.	EKG 6. Distemper belirlenen bir köpekte; T dalgası süresinde uzama ve taşikardi	65

KISALTMALAR

ACE	: Anjiyotensin çevirici enzim
AMI	: Akut Myokard Enfarktüsü
AST	: Aspartat Amino Transferaz
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Amino Transferaz
BUN	: Kan Üre Nitrojen
CK	: Kreatin Kinaz
CK-MB	: Kreatin MB Mass
cTn-C	: Kardiy al Troponin-C
cTn-I	: Kardiy ak Troponin-I
cTn-T	: Kardiy ak Troponin-T
DCM	: Dilatekardiyomyopati
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

GGT	:Gama Glutamiltransferaz
KKY	: Konjestif Kalp Yetmezliği
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
L/L	: Laterolateral
MV	: Mitral kapak
NSAID	: Steroid olmayan antienflatuar İlaç
VPC	: Ventriküler prematüre atım,
V/D	: Ventrodorsal
ALB	: Albümin
TP	: Total protein
TV	: Triküspital kapak
T3	: Triiyodotronin
T4	: Troksin

SAĞLIKLI VE KALP HASTALIKLI KÖPEKLERDE KALP KÖKENLİ TROPONİN DÜZEYLERİ İLE YAŞ VE IRK FAKTÖRÜNÜN BU PARAMETRE ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu projenin amacı; sağlıklı ve kalp hastalıklı köpeklerde immünokromatografik test kitleri ile cTn-I ve cTn-T'nin varlığını ve ELİSA analizi ile serumdaki düzeylerini belirlemektir. Bu amaçla farklı yaş ve ırklarda yavru ve yetişkin köpekler projeye dahil edildi. Köpeklerin yaş ve diğer verileri kaydedilerek, yaşlarına göre 1-3 ay, 3-6 ay, 6-12 ay, 1-5 yaş ve 5-10 yaş olmak üzere 5 grup olacak şekilde numuneler kaydedildi. Bu köpeklerden plazma ve serum örnekleri toplandı.

Çalışma grubunu solunum (Grup I), gastrointestinal (Grup II) ve kardiyomyopati (Group III) köpekler oluşturdu. Kayseri ve civarından Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine getirilen kardiyak ve/veya nonkardiyak nedenlerle oluşan, farklı yaş ve ırklardaki çeşitli kalp hastalıklı köpekler çalışma grubunu oluşturmak için kullanıldı. Primer kalp hastalığı bulunan ve kalpte kardiyomyopati, aritmi oluşturması muhtemel diğer sistem bozuklukları (asid-baz, üremi, hipoksi, gastrointestinal sistem hastalıkları, sepsisemi, troikal bozukluklar, parvoviral enteritis-myokarditis, distemper, drofilariosis) için bu köpeklerden kalp kası troponinleri ve ilave olarak biyokimyasal parametrelerin analizleri için serum ve plazma örnekleri toplandı. Hasta köpeklerin klinik muayeneleri yapılarak, kalp radyografleri alındı.

Elektrokardiyografi ve ekokardiyografi uygulamaları da ayrıca uygulandı. Kardiyak ve nonkardiyak problemlili köpeklerde kardiyak troponin (cTn) düzeylerine ilave olarak pratik cTn testleri de uygulandı. Bir spektrofotometre ile biyokimyasal analizler, ticari ELİSA kitleri ile cTn düzeyleri ve pratik cTn kitleri ile cTn varlığı bütün gruplarda belirlendi. Ölen köpeklerin nekropsisi yapıldı. Kontrol grubundaki farklı yaş grubunu oluşturan köpekler arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık belirlenmedi. Kardiyak cTn-I ve cTn-T testleri bazı kardiyak ve nonkardiyak hastalıklı köpeklerde pozitif belirlenirken, sağlıklı kontrol gruplarının herbirinde negatif olarak bulundu. Pratik cTn kitleri distemper ve parvovirus enfeksiyonlu köpeklerde pozitif belirlendi. Bu testler aynı zamanda solunum asidozisli köpeklerde de pozitifdi. Grup I, II, III deki cTn-I and cTn-T pozitif belirlenen köpeklerin sayısı sırasıyla cTn-I için; 5, 5, 15 ve cTn-T için; 4, 5, 7 idi. Özellikle cTn pozitif belirlenen köpeklerdeki ortalama cTn-I düzeyleri istatistiksel olarak kontrol grubundakilerden yüksekti ($p<0,001$). Grup I, II ve III'deki ortalama cTn-I konsantrasyonları sırasıyla $2,26\pm0,41$ ng/ml, $2,41\pm0,98$ ng/ml ve $5,076\pm1,32$ ng/ml idi. Ortalama cTn-I düzeyleri cTn negatif olan köpeklerde sırasıyla $0,39\pm0,45$ ng/ml, $0,40\pm0,25$ ng/ml ve $0,08\pm0,03$ ng/ml olarak bulundu. Bütün gruplardaki ortalama cTn-T düzeyleri istatistiksel açıdan farklı değildi.

Sonuçta hem kantitatif cTn-I analizleri hem de kalitatif cTn-I ve cTn-T varlığı kardiyomyopati köpeklerde duyarlı ve spesifik bir belirleyici olabilirler. Aynı zamanda köpeklerde oluşacak kardiyak dejenerasyonların önceden belirlenmesinde de kullanılabilir. İnsanlarda kullanılan pratik kardiyak kitler, aynı zamanda distemper ve parvovirus enfeksiyonlarında gelişecek myokarditislerin de belirlenebileceği faydalı birer teşhis aracı olabilirler.

Anahtar kelimeler:Kardiyak Troponin I, Kardiyak Troponin T, Kardiyomyopati, Distemper, Parvovirus, Köpek

INVESTIGATION OF CARDIAC TROPONIN LEVELS AND THE EFFECTS OF AGE AND RACE FACTOR ON THIS PARAMETER IN HEALTHY DOGS AND DOGS WITH CARDIAC DISEASE

ABSTRACT

The aim of this project was to determine the expression of cTn-I and cTn-T with immunochromatographic strip kits, the levels of serum cTn-I, cTn-T levels with ELISA in dogs with cardiac problems and healthy. For this purpose, puppies and adult dogs were included in the project. Age of dogs and other data were recorded, 5 different age groups were designed according to the age of 1-3 months, 3-6 months, 6-12 months, 1-5 years and 5-10 years of age. Plasma and serum samples were collected from these dogs. Study group were included dogs with respiratory (Group I), gastrointestinal (Group II) and cardiomyopathy (Group III). Dogs with cardiac and / or noncardiac disorders admitted to clinics of Erciyes University Faculty of Veterinary Medicine from the vicinity of Kayseri formed the study group of this project. Serum and plasma samples were collected to determine primary cardiomyopathy and other system disorders such as acid-base, uremia, hypoxia, gastrointestinal diseases, septicemia, troidal disorders, parvoviral enteritis-myocarditis, distemper,

drofilariosis. Clinical examinations were made and radiographs, electrocardiography, echocardiography sampling were taken from study group. In addition cardiac troponin levels and practice cTn tests were analysed in dogs with cardiac and noncardiac problems. Analyses of biochemical parameters by the use of an autoanalyzer, cTn-I and cTn-T levels by commercial ELISA kits and expression of cTn by practice rapid test were detected in both groups. Necropsy were performed in the died dogs. Statistically significant difference were not determined in cTn-I and cTn-T concentrations between different age groups of control dogs. Cardiac Tn-I and cTn-T tests were determined as positive in the some dogs with cardiac and noncardiac disease, but these tests were negative in blood samples collected from healthy dogs. Practice cTn kits were found as positive in dogs with distemper and parvovirus infections. Both cardiac cTn-I and cTn-T were positive in dogs with respiratory acidosis. The number of dogs that cTn-I and cTn-T was determined as positive in Group I, II, III were 5, 5, 15 for cTn-I and 4, 5, 7 for cTn-T respectively. Especially mean cTn-I levels in cTn positive dogs in all study groups were statistically higher than those of control dogs ($p < 0,001$). The mean concentrations of cTn-I in Group I, II and III were $2,26 \pm 0,41$ ng/ml; $2,41 \pm 0,98$ ng/ml and $5,076 \pm 1,32$ ng/ml respectively. Mean cTn-I levels in cTn negative dogs were found as $0,39 \pm 0,45$ ng/ml, $0,40 \pm 0,25$ ng/ml and $0,08 \pm 0,03$ ng/ml respectively. The differences in mean cTn-T levels were not statistically significant in all groups. In conclusion, both quantitative cTn-I analyses and qualitative cTn-I, cTn-T expressions may be sensitive and specific marker for the determination of mortality rate in dogs with cardiomyopathy. These markers can also be used to predict the future cardiac disorders in dogs. Human practice cTn kits may be a valuable diagnostic equipment to determine the myocarditis in distemper and parvovirus infection cases.

Keywords: Cardiac Troponin-I, Cardiac Troponin-T, Cardiomyopathy, Distemper, Parvovirus, Dog

1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

Bu proje ile; sağlıklı ve kalp hastalıklı köpeklerde serum kardiyak Troponin-T (cTn-T) ve kardiyak Troponin-I (cTn-I) düzeylerinin belirlenmesi, köpeklerin özellikle myokardial hastalıklarında bu iki globuler proteinin, kreatin kinaz MB (CK-MB) ve laktat dehidrogenaz (LDH) düzeylerine göre muhtemel diagnostik üstünlüklerinin ortaya konulması, kalpte kardiomyopati, aritmi oluşturabilecek; asid-baz dengesizlikleri, üremi, hipoksi, gastrointestinal sistem hastalıkları, septisemi, troidal bozukluklar, parvoviral enteritis-myokarditis, distemper, drofilariozis gibi sistemik bozukluklarda kalp kası troponin I ve T düzeylerinin belirlenmesi, myokardiyal enfarktüslerde kanda kardiyak Troponin-T (cTn-T) ve kardiyak Troponin-I (cTn-I) artışlarını belirleyen; hızlı ve basit bir teşhis imkanı sağlayan pratik kardio kitlerin köpeklerdeki kullanılabilirliği, kardiyak Troponin-T (cTn-T) ve kardiyak Troponin-I (cTn-I) gibi myokardiyal hastalıkları belirleyen bu iki önemli parametrenin birbirlerine göre kalp hastalıklarının teşhisi ve prognozundaki avantaj ile dezavantajlarının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Ayrıca tüm omurgalılarda bulunduğu bilinmesine rağmen sınırlı sayıda hayvan materyali üzerinde yürütülen bir kaç çalışma dışında bu konuda yeterli çalışma bulunmadığı gibi köpeklerde yaş ve ırk gibi faktörlerin kalp kası troponinleri üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya da ulaşamamıştır. Yukarıda belirtilen bu gerekçeler nedeniyle cTn-T ve cTn-I düzeylerinin yaş ve ırk faktörlerine göre değişip değişmediğinin belirlenmesi bu proje ile planlanmıştır.

Bu araştırma sonucunda elde edilen bulgular ışığında; Veteriner hekimlikte kullanım alanına yeni giren ve kardiyak hastalıklarda diagnostik ve prognostik önemleri olduğu bildirilen cTn-T ve cTn-I'nın ırk ve yaş (yeni doğan ve yetişkin) ölçütleri de göz önüne alınarak; köpeklerdeki referans değerlerinin oluşturulması ve sonuçların konuyla ilgili yapılacak yeni çalışmalara da kaynak oluşturması nedeniyle de bu proje önem taşımaktadır. Ayrıca köpeklerde yaygın oranda seyreden parvovirüs ve distemper gibi sistemik hastalıkların neden olduğu kalp hastalıklarında troponinlerin belirlenmesi de sahamızdaki bu konuyla ilgili ilk verileri teşkil etmektedir.

Globüler bir protein olan troponin, çizgili kasların ince filamentleri üzerine yerleşmiş asıl düzenleyici protein kompleksidir. Üç üniteden oluşmuştur. Bunlar; tropomyosine bağlanan Tn-T, tropomyosini inhibe eden Tn-I ve kalsiyum bağlayan Tn-C dir. Bunlar da yine kendi içlerinde çeşitli alt ünitelerden meydana gelmişlerdir (1, 2). Oluşan myokardial hasarları takiben kan serumunda bu proteinin düzeylerinde çok önemli yükselmelerin oluştuğunun gözlenmesiyle, konvansiyonel metotların yerine troponinlerin, diagnostik ve prognostik önemleri ortaya konulmuştur. Özellikle myokardiyal infarktüs geçiren (Mİ) hastalarda kardiyak Tn-T ve Tn-I üzerine yapılan çalışmalar yoğunlaşmıştır (2-5). Hayvanlarda myokardiyal hasarla seyreden hastalıkların tanısında yukarda bahsedilen kan testleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır.

İnsanlarda çeşitli yönleriyle ortaya konulan troponin kompleksinin ise, hayvanlarda ne oranda bulunduğu ve yapısal benzerlikleriyle ilgili çalışmalarda, hem cTn-I hem de cTn-T sağlıklı köpek, maymun, domuz, rat, buzağı ve koyun dokuları ile kanlarında yüksek düzeylerde bulunmuş ve insan troponinleriyle aminoasit dizilişleri bakımından yüksek oranda benzerlikler ortaya çıkmıştır (6-9).

Köpeklerdeki doğumsal ve edinsel kalp hastalıkları küçük hayvan kliniklerinin yoğun uğraşı alanlarından birini oluşturur. Kalp hastalıkları, etkilediği organ ve sistemler üzerindeki etkileri nedeniyle hayatı tehdit eder. Erken dönemde tanımlanması ile erken müdahale şansı olduğu takdirde köpeklerin yaşam süresinin uzatılabilmesi söz konusu olabilir. Ayrıca kalbi etkileyen kalp dışı nedenlerin ortadan kaldırılması ile kardiyak bozuklukların da engellenmesi mümkün olur.

Beşeri hekimlikte daha önceleri ve günümüzde de Mİ' ün belirlenmesi amacıyla çeşitli enzimlerden (LDH, CK-MB, AST) ve myoglobinden sıkça faydalanılmaktadır. Fakat son yıllarda bu enzimlerle birlikte veya yalnız kalp kökenli troponinlerin kullanım alanına girmesiyle Mİ'lerde çok erken teşhis imkânının güvenli ve ekonomik bir şekilde sağlanabildiği ileri sürülmektedir (3-5). Bu konuda özellikle laboratuvar hayvanları ve insanlar üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış olmakla birlikte, bu çalışmalar halen devam etmektedir (8-12). Kardiyak Tn-I ve cTn-T'nin, myokardial hasarlar için LDH ve CK-MB gibi önceleri yaygın şekilde kullanılan enzimatik belirleyicilerden daha büyük bir spesifiteye sahip olduğu belirlenmiştir. İnsanlardaki şüpheli akut myokardial infarktüs veya travmaların

değerlendirilmesinde serum cTn-T ve/veya cTn-I düzeyleri diagnostik standart olarak belirlenmiştir. Dolaşımdaki kardiyak troponin konsantrasyonları; dilate kardiyomyopati, hipertrofik kardiyomyopati, trauma, myokarditis, aritmiler ve sistemik hipertansiyon gibi kronik myokardial hasarların belirlenmesinde de kullanılmıştır.

Köpeklerde doğal olarak oluşan kalp hastalıklarında dolaşımdaki troponin konsantrasyonlarının belirlendiği sınırlı sayıda çalışma vardır. O'Brien ve ark. (7, 13), köpeklerde ve çeşitli türlerde iskelet kas troponinlerine karşı cTn-I ve cTn-T' nin spesifitesini tanımlamışlardır. Sleeper ve ark. (14), köpek ve kedilerdeki plazma troponinlerinin normal değerlerini belirlemişlerdir. Schober ve ark. (15), ise myokardiyopati ve şüpheli myokardial kontüzyonlu köpek ve kedilerde troponin düzeylerini ortaya koymuşlardır. Lobetti ve ark. (16) köpek babesiozisinde myokard hasarının şiddetinin belirlenmesinde cTnI yı kullanmışlardır.

İnsanlarda neonatal dönemde alınan göbek kordonu kanlarının analizlerinde troponin düzeylerinin yetişkinlerden daha fazla aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (17). Sınırlı hayvan materyali ile yapılan birkaç çalışmada özellikle yaş ve ırk faktörlerinin kalp troponinleri üzerindeki etkileri ile distemper ve parvoviral enteritis gibi viral hastalıklarda bu parametrelerin nasıl değişim gösterdiği belirlenmemiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KÖPEKLERDE KALP HASTALIKLARI

Köpeklerde kardiyovasküler hastalıklar veteriner hekimlerin sık uğraştığı alanlardan biridir. Çeşitli kan tahlilleri, elektrokardiyogram, radyografi, kan basıncı ölçümleri, ekokardiyografi gibi kapsamlı tanı yöntemleri olmasına rağmen kalp hastalıklarının şiddeti ve ilerlemesinin tahmin edilmesi kadar prognozunun belirlenmesi de genellikle zordur. Köpeklerde en çok karşılaşılan kalp hastalıkları; kalp kapağı hastalıkları, kardiyak aritmiler, kalp kası hastalıkları (myokardiyopatiler) ve kalp yetmezlikleridir (18).

2.1.1. Kalp Kapağı (Valvüler) Hastalıkları

Hayvanlarda dört kardiyak kapağın herhangi birinde oluşan bozukluk çoğunlukla kapak yetmezliği ile sonuçlanır. Etiyolojisinde dejeneratif değişiklikler, infeksiyöz (bakteri, viral), yarı, travma ve bilinmeyen nedenler rol oynar (19).

Bozukluğun tipine (daralma veya yetmezlik) ve yerleştiği kapağa göre değişiklik göstermekle birlikte genel klinik bulgular içerisinde çoğunlukla bir üfürüm ile kendini belli eder, bu da kapak yetmezliğinin (tam kapanamama = insufficiencia) bir sonucudur. Üfürüm etkilenen kapağın üzerindeki bölgede duyulur ve geri gelen kan akışı doğrultusunda yayılır. Ayrıca kapakların esnekliğini yitirerek daralması (stenoz), halinde kapanan kapaklar tam

olarak açılma yeteneklerini kaybederler. Küçük hayvanlarda kalp kapağı bozukluklarının başlıca nedenleri: Mitral kapak endokardiyozisi ve Bakteriyel endokarditis'dir (18-20).

2.1.1.1. Mitral Kapak Endokardiyozisi

Köpeklerde ensık görülen kardiyovasküler hastalıktır. Endokardiozis genellikle mitral kapak yetmezliğine neden olsa da bu bozukluk dilate veya hipertrofik kardiyomyopati ve endokarditisle de ilgilidir. Görülme sıklığı yaşla birlikte artar. Bir yaşından itibaren küçük köpeklerde %5, 16 yaşından büyüklerde %75 oranında görülür. Daha çok küçük yapılı köpeklerde görülür (21).

Patofizyoloji, mitral kapağın orta tabakasında fibroblastik dokunun proliferasyonu ve glikozaminoglikanların birikimi ile sonuçta kapakların serbest kenarları boyunca nodüllerin oluşumu ile karakterizedir. Nodüller genişler ve bir araya toplanarak kapakcıkların zayıflamasına, düzensizleşmesine ve kılmasına neden olur. Bu süreçte yangı söz konusu değildir. Bu bozukluk kapaklarda zayıflama ve kılma, kordotendinianın rupturu, mitral kapak anulusunun dilatasyonu, musculus papillarisin fibrozis veya nekrozisi, sol atriumun dilatasyon ve rupturu veya sol ventrikülün dilatasyonu ile valvuler endokardiyozis ile birlikte bulunabilir. Mitral kapak endokardiyozisli köpeklerin yaklaşık % 62 sinde etkilenebilir. Mitral ve triküspital endokardiyozis vakaların % 33 de oluşur. Yalnızca triküspital kapak vakaların sadece % 1 inde etkilendir. Endokardiyozis sistol esnasında sol atriuma bir miktar kanın kaçması nedeniyle hafif sistolik üfürümle seyreder. Hacim akışındaki aşırılığın bir sonucu olarak Konjestif kalp yetmezliği (KKY) gelişir. Tüm köpek ırklarında ve ufak köpek ırklarındaki kalp hastalıkları içinde % 95' oranında görülen KKY vakalarının; % 75 inin mitral kapak yetmezliği nedeniyle oluştuğu tahmin edilmektedir. Fakat bir mitral kapak üfürümünün belirlenmesi ile KKY gelişimin arasındaki süre birkaç yılı bulabilir. Konjestif kalp yetmezliği oluşturan başlıca faktör regürnite edilen sıvı hacmi ve yüksek sol atriyal basıncıdır. Mitral kapak yetmezliği sonucunda pulmoner arteriyel hipertansiyon, buna bağlı olarak sağ ventriküler hipertrofi ve ilerleyen dönemlerde muhtemelen sağ kalp yetmezliği de şekillenir. Hastalığın göstergeleri, klinik bulgular ve fiziksel muayene ile teşhis edilir. En sık görülen klinik belirti öksürüktür. Derin bir öksürük geceleri ve egzersizden sonra belirginleşir (sol atrium da büyüme pulmonik konjesyon ve ödem). Küçük ve daha yaşlı ufak ırk köpeklerde kronik hava yolu hastalıkları da çok yaygın

olduğu için kalp kökenli öksürüğün belirlenmesinde bu durum da göz önüne alınmalıdır. Konjestif kalp yetmezliği belirtileri bulunur. Syncope (bayılma) zayıf kan akışı nedeniyle görülür. Ayrıca öksürük nöbetleriyle de ilgili olabilir. Konjestif kalp yetmezliği'ne ilişkin belirtiler: dispnea, ortopne, ekzersiz intolerans, halsizlik, hareketsizlik, iştah kaybıdır (18-21).

Fiziksel muayene bulgularında kalbin sol apexi üzerinde hafif sistolik üfürüm duyulur. Pulmoner ödemli köpeklerde, inspirasyon sonunda çıtırtılı patlama sesleri duyulabilir. Eğer belirgin miktarlarda pleural veya perikardiyal sıvı varsa kalp sesleri engellenebilir. Nabız düzensizdir (kardiyak aritmilerle ilişkili olarak), veya zayıftır (ileri kalp yetmezliği durumlarında) veya gri-siyanotik mukoz membranlar belirlenir. Şayet sağ ventriküler yetmezliği varsa bu durumda asites ve *v. jugularis*'te genişleme söz konusu olur (19).

Radyografik incelemelerde lateral projeksiyonda kaudal sırt omurlarının kaybolduğu, torasik trakeanın dorsale doğru yükseldiği ve sol bronşunda sağa göre daha fazla olarak yine dorsale doğru yer değiştirdiği belirlenir. Dorsoventral görüntüde ise saat 2-3 yönüne doğru balonlama tarzında sol atrial büyüme belirlenir (22-24).

EKG bulgularında, QRS süresinde artma, R dalgasında uzama görülebilirse de, EKG normal de olabilir. Subraventriküler aritmi (atriyal prematüre atımlar, taşikardi veya fibrilasyon), ventriküler ektopi veya sinüs taşikardi belirtileri de olabilir (22).

Bozukluğun tedavisinde, pulmoner venöz konjesyon veya ödem yoksa tedavide sol atrium ebatlarının azaltılması başlıca amaçtır. Arteriyel vazodilatör ile tedaviye başlanır (Digoxin ile desteklenebilir) Bu amaçla ACE inhibitörü veya hydralazine uygulanır. Diüretikler verilir. Diyetten tuz azaltılır veya kaldırılır. Furasemid hafif veya yüksek dozlarda 2-3 gün uygulanır. Vazodilatörler kısa süreli destek amacıyla kullanılabilir. Venödilatorler, arteridilatörler ve digoxin uygulanabilir (21).

2.1.1.2. Bakteriyel Endokarditis

Nadir görülen bir bozukluktur. Çeşitli mikroorganizmaların, kalpteki dilatasyon ve tümörlerin endokardta meydana getirdiği yangısal bozukluklara 'Endokarditis' adı verilir. Kalpteki atrioventriküler deliklerin daralması veya iyi kapanamaması nedeniyle kalp boşluklarına toplanan kanın vücuda pompalanması aksar ve konjestif kalp bozukluğu gelişir. Büyük erkek köpeklerde ve özellikle Alman Kurt köpeklerinde sık görülür.

Kongenital kalp defekti olanlar daha predispozedir. Ayrıca yetersiz immün sistem ve sepsiste risk faktörleridir. Köpeklerde *S. aureus*, *E.coli* ve β -hemolitik streptokok gibi etkenler rol oynar (19, 20).

Bakteriyemi ve kolonizasyon hastalığın gelişimi için gerekli şartlardır. Pek çok bakteri öncelikle hasarlı endotelyuma kolonize olur. Fakat bazı bakteriler (*S. aureus*) proteaz salgırlar ve bu sayede doğrudan endotelial yüzeye kolonize olurlar. Organizmaların enfeksiyonu sonucunda doku tahribatı şekillenir. Şiddetli kapak bozuklukları, çevre yapıların yıkımlanması, kordo tendinianın hasarı ve rupturu, sol atrial ve ventriküler duvarda perforasyon, interventriküler ileti sistemlerinde hasar meydana gelir. Kolonizasyon alanlarına trombosit ve fibrin birikimi, kapakcıklar üzerinde gözlenen karakteristik vejetatif yapıların oluşmasına neden olur. Bu vejetatif yapılardan kopan parçalar vücudun çeşitli alanlarına embolize olabilirler. Dalak ve böbrekler çoğunlukla etkilenirler, fakat eklemler, merkezi sinir sistemi ve diğer organlar da etkilenebilirler (18).

Teşhiste, kan kültürünün pozitif olması, kalp hastalığı bulguları, fiziksel, ekokardiyografik ve laboratuvar bulguları ile tanı konur. Vakaların % 80'inde lökositosis ve monositosis bulunabilir. Normositik normokromik nonrejeneratif anemi, hematüri, pyuri, proteinüri vakaların yaklaşık % 50'sinde bulunur. Köpeklerde azotemi (% 31) ve hipoglisemi (% 22) de belirlenebilir. Nadiren DIC (yaygın damar içi pıhtılaşma bozukluğu) de belirlenebilir. Pozitif kan kültürü bulguları yoksa ekokardiyografi ve sistemik emboli bulguları göz önüne alınmalıdır. Klinik bulgular, sepsise bağlı olarak ateş, letarji, şok, eklem ve kas ağrıları şeklinde seyreder. Topallık, aritmi, titremeler ve ani ölüm septik emboli sonucunda oluşur. Kalbe ait anormallik belirtileri ise kalp yetmezliği, aritmi, halsizlik, bayılma ve egzersiz esnasında çabuk yorulmadır. Fiziki muayenede ateş, üfürüm ve topallık rapor edilse de endokarditiste fiziki muayene bulguları çok değişkenlik gösterir. Ateş veya üfürüm bütün köpeklerde olmayabilir. Tedavide aminoglikozitler (gentamisin), Penisilinler verilir (5–10 gün İ.V, 6–8 hafta devam edilir). Aminoglikozitler 7-10 günden sonra verilmez. Flunixin meglumin uygulamaları yapılır. Fakat köpeklerde de uzun süreli prognoz çok zayıftır. Konjestif kalp yetmezliği, septik emboli ve renal yetmezlik nedeniyle ölürlür. Gram (-) mikroorganizmaların rol aldığı vakalarda prognoz daha kötüdür (21).

2.1.2. Kardiyak Aritmiler – Disritmia

Aritmi, kalp atım sayısı ve düzenindeki anormallikleri ifade eder. Veya impulsların oluşum yerlerinde ve impulsların iletimindeki bir bozukluk sonucu oluşan düzensiz ritimlerdir. İmpuls oluşum veya iletim merkezlerindeki herhangi bir bozukluk aritmi ile sonuçlanır. Aritmiler nedenlerine göre, otonomik, kalp kökenli, ekstrakardiyak kökenli olarak ayrılırlar. Myokard hücrelerinin elektrik aktivitelerinde bir takım değişiklikler de aritmi ile sonuçlanır. Patolojik aritmiler performans düşüklüğü ve egzersiz intoleransına neden olurlar. Aritmiler kalp kökenli veya kalp dışı başka sistemlerdeki bozukluklar nedeniyle oluşabildiği gibi, herhangi bir kalp hastalığı da aritmilere neden olabilir. Fakat özellikle sol atrial büyüme kardiomyopati ve travma en önemli nedenleridir (küçük hayvanlar). Irka bağlı faktörler de söz konusudur (Doberman pinscherlarda his demeti dejenerasyonu sonucu 2. 3. derece AV blok, Dalmasyonlarda sinüs düğümü hastalıkları, Alman kurt köpeklerinde ventriküler taşiaritmiler ve ani ölüm) kardiyak nedenlerdir. Nonkardiyak nedenler ise asidozis, alkalozis, elektrolit anormallikler hipoxia, yoğun sempatik veya parasempatik sinir sistemi hastalıkları, gastrointestinal sistem hastalıkları, ilaç toksisitesi, hormonal bozukluklar, şok, hipotermi sepsis, tümör ve mekanik uyarılardır (22-24).

2.1.3. Myokard Hastalıkları (Kardiyomyopatiler)

Kalp kasında yapısal, yangısal ve/veya dejeneratif değişiklikler kardiyomyopatileri oluşturur. Yapısal değişiklikler içerisinde kalp dilatasyonu, kalp hipertrofisi yer alır (21).

2.1.3.1. Kalp Dilatasyonu

Sistolik myokard fonksiyonlarının bozulması ve konjestif kalp yetmezliği ile sonuçlanan yavaş ilerleyen bir kalp hastalığıdır. Aritmilerle birlikte seyrederler. Ani ölüm görülmez. Köpek ve atlarda sıktır. İleri yaşlarda daha sık görülür. Nedenleri; yangı ve myokard hastalıkları sonucu oluşan hücrel hasar, genetik faktörler ve ırk predispozisyonu, L. karnitin ve Taurine eksikliğidir (21). Konjestif kalp yetmezliği belirtileri bulunabilir. (ventriküler aritmi sözkonusu ise Syncope vardır). Kalp gürültülü çalışır (Gallop ritmi). Hafif sistolik üfürümler vardır. Düzensiz kalp atımları oluşur. Aritmi nedeniyle nabız zayıftır. Akciğer öskültasyonunda çıtırtılı sesler duyulur. Solgun mukoz membran, uzamış kapiller dolma zamanında uzama ve zayıflık gözlenir. Teşhis amaçlı radyografi analizlerinde pulmoner venöz konjesyon ve ödem dikkati çeker. Sol atrium ve ventrikülde büyüme, belirgin generalize kardiyomegali gözlenebilir. Atrial fibrilasyon bulunur, ventriküler

prematüre kontraksiyonlar (VPC), ventriküler taşikardi EKG bulguları içerisinde yer alır. Tedavide kalp dijitaleri, diüretik ve antiaritmik tedaviler yapılır (18, 20, 25-30).

2.1.3.2. Kalp Hipertrofisi

Kalp kası hücrelerinin büyümesi ve kalp kasında generalize kalınlaşma ile karakterizedir. Daha çok kedilerde rastlanır. Hastalığın oluşumunda genetik faktörler rol oynayabildiği gibi, anormal kateşolamin metabolizması, anormal Ca geçişi, hipertroidizm, akromegali ve hipertansiyon rol oynar. Klinik belirtiler asemptomatik olabilir, genel muayenede sistolik üfürüm ve gallop ritmi ile belirlenebilir. Akut dispne ve letarji belirtileri genellikle kalp yetmezliği ve pulmoner ödem nedeniyle oluşur. Aortik tromboembolizm nedeniyle arka bacaklarda parezis oluşur.

Oksijen tedavisi, diüretikler, bronkodilatörler (Aminofilin, Teofilin), β -adreno blokörler (probranolol), Ca-kanal blokörleri (Diltiazem, Verapamil), aspirin uygulamaları tedavi seçenekleri arasında yer alır (18-21, 31).

2.1.3.3. Kalp Kası Yangısı / Dejenerasyonu (Myokarditis - Myokardoz):

Kalp kası dejenerasyonları, myokard duvarının çoğunlukla bakteriyel, viral veya paraziter organizmalar nedeniyle veya bu organizmalar tarafından meydana getirilen trombo embolik hastalıkları tarafından oluşturulan akut yangılardır. Kalp kontraksiyon gücünün azalmasıyla karakterizedir. Ayrıca bakteriyemi, septisemi, perikarditis veya endokarditislere bağlı olarak da gelişebilir. Akut myokarditislerde hastalığın prevalansını tesbit etmek çok güçtür. Çoğunlukla teşhis edilemez. Morbiditesini de tahmin etmek güçtür. Çünkü nadir ölüm nedenlerinden biridir. Spesifik kardiyo vasküler belirtiler olmaksızın asıl hastalığa ait belirtiler daha ön plandadır. Kalp kası dejenerasyonları ise etyopatogeneze göre myokardoz olarak tanımlanırlar (18-20). Köpeklerde, β – hemolitik streptokoklar, stafilokok, *Neospira caninum*, distemper, parvovirus enfeksiyonları, *Drofilaria imminitis*, mikotik etkenler, çeşitli ilaçlar. (Adriamysin, İsoiprenalin) ve tümörler kalp kası dejenerasyonlarına neden olur (18, 19).

Patogenez primer hastalığın durumuna bağlıdır. Pek çok enfeksiyöz etken septisemi ve hematojen yolla myokardiuma ulaşır. Myokard hasarı ya damar daralması veya doğrudan

bakteriyal, viral, paraziter etkenlerle oluşur. Myokard kontraksiyonu azalır, kalp verimi düşer.

Solunum, genital, gastrointestinal, üriner, muskuloskeletal sistemlere ait bulgularla seyredebilir. Hayvanlarda çoğunlukla aniden ölüm şekillenebilir. Depresyon, halsizlik, anoreksi, aralıklı veya sürekli ateş, zayıflama, üreme yetersizlikleri görülür. Taşikardi, gürültülü bir kalp sesi, dispne, solunum sistemi belirtileri görülür. Göğüste ve arka bacaklarda ventral ödem bulunabilir. Oskültasyonda kardiyak aritmiler, üfürüm, zayıf veya boğuk kalp sesi alınır.

Hastalığın teşhisi, hastalığın geçmişine ait bilgilerin alınması belirlenmesi bakteriyel kültürlerle yapılır. Myokard enzimlerinden AST, CK, LDH, myoglobin, kardiyak troponin düzeyleri serumda artar. Pleura veya perikard sıvısı analizleri: protein, transudat, mononükleer hücreler azalma gibi bulgulara rastlanır (22, 26)

Tedavide dinlendirme yapılmalıdır. Toksemi durumlarında kortikosteroidler faydalıdır, bakteriler için antibiyotikler verilir. Destekleyici tedavi; İ.V. sıvılar, asit – baz dengesinin düzeltilmesi, NSAID’lar, antiaritmik uygulamalar yapılır. Kalp yetmezliği belirtileri yoksa ve aritmiler kontrol altına alınmışsa prognoz iyi denebilir. Konjestif kalp yetmezliği varsa kötüdür (18-20).

2.2. VETERİNER HEKİMLİĞİNDE KALP KÖKENLİ TROPONİNLERİN ÖNEMİ

2.2.1. Giriş

Kardiyak hastalıkların klinik değerlendirilmesi ve teşhisinde fiziksel muayeneler, elektrokardiyografi ve ekokardiyografi bulguları ile bazı serum biyokimyasal parametrelerin analizleri önemli bir yer tutar. Bu parametreler arasında özellikle kalp kası hastalıklarının teşhisinde, myoglobin, CK-MB, LDH ve AST enzimlerinden sıkça faydalanılır. Bu teşhis metodları özellikle akut koroner sendromlu hastaların değerlendirilmesi ve sınıflandırılması için gereklidir. Çoğu zaman klinisyenler tarafından koroner sendromun tipik klinik belirtileri görülmeyebilir veya göz ardı edilebilir. Örneğin, miyokard enfarktüsü hastaların 1/3’ünde işemi belirtileri bulunmayabilir (32). Ayrıca akut miyokard enfarktüsü birçok hasta atipik belirtilere de sahip olabilir (33). Kalp hastalıklarında yukarıda bahsedilen teşhis

metodlarının da yetersiz kaldığı bazı durumlar bulunabilir. Myokardiyal enfarktüsün (MI) değerlendirilmesinde EKG bulguları gereklidir. Buna rağmen MI'lı hastaların % 45'i EKG ile teşhis edilebilir. Ayrıca, MI nedeniyle hospitalize edilmiş hastaların yaklaşık % 60'ında ST segmentinde uzamanın görülmeyebileceği de bildirilmiştir (32). Kalp hastalıklarının teşhisinde bir takım serum biyokimyasal belirleyiciler uzun bir süredir insan hekimliğinde kullanılmaktadır. İlk olarak 1979 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından total CK aktivitesi, LDH ve AST'nin akut koroner sendromlu hastaların belirlenmesinde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Daha sonraki yıllarda ise myoglobin, CK-MB, LDH ve AST insan hekimliğinde kullanım alanına girmiştir. Akut koroner sendromlu hastaların teşhisinde özellikle myoglobin ve CK-MB rutin olarak kullanılan iki biyokimyasal belirleyicidir (34). Özellikle CK-MB düzeylerindeki tipik artış ve azalmalar, 1980'li yıllardan 1995 yılına kadar kabul edilen bir teşhis markası olarak kalmıştır. Myoglobin ilk olarak 1970'lerde akut MI teşhisi için kullanıldı. Fakat acil klinik pratikte yavaş ilerleyen analiz metodları ve kullanımındaki yetersizlikler nedeniyle çok fazla popülarite kazanamadı. Bununla birlikte son yıllarda ise myoglobin için hızlı assay teknikleri de geliştirilerek kullanıma sunulmuştur. Myoglobin sadece kalp için spesifik bir belirleyici değildir. Aynı zamanda iskelet kasları için de spesifik bir ajandır. Fakat bu belirleyicinin MI'lı hastaların teşhisinde kullanılan diğer belirleyicilerden daha erken bir duyarlılığa sahip olduğu da bildirilmiştir (1, 5). Son yıllarda, koroner sendrom vakalarının değerlendirilmesi için serum kalp troponinleri özellikle cTn-I ve cTn-T kalp hastalıklarında yeni bir gösterge olarak kullanılmaya başlanmıştır. Serum kalp troponinlerinin insanlarda akut koroner hastalıkların teşhisinde en erken dönemde belirlenebilen biyokimyasal belirleyici olduğu klinik denemelerle gösterilmiştir (35-37).

2.2.2. Troponinlerin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Kalp kasının miyofibrilleri aktin ve myozin isimli iki alt üniteden oluşur. Aktin filamentini oluşturan başlıca yapılardan birisi troponin kompleksidir. Bu kompleks zayıf aktin filamenti boyunca düzenli aralıklarla yerleşmiştir. Troponinler vücutta çizgili kaslar üzerinde yer alan globüler yapıdaki proteinlerdir. Üç temel üniteden oluşurlar. Bunlar Tn-I, Tn-T ve Tn-C olarak isimlendirilirler (1, 38). Bu üç protein troponin kompleksini oluşturur. Troponin-T

tropomyozine troponin kompleksini bağlayan ve tropomyozin için güçlü bir affiniteye sahip olan proteindir. Troponin-I ise aktin filamenti için güçlü bir affiniteye sahiptir ve aktomyozin ATPaz aktivitesinin bir inhibitörü olarak rol oynar, aktin ve myozin arasındaki ilişkiyi düzenler (39,40). Troponin-C ise troponin kompleksinin kalsiyumu bağlayan bir ünitesidir (41). Kalsiyum iyonları kalp kasının kontraksiyonlarını takiben troponin kompleksine bağlandığı takdirde aktin ve tropomyozin arasında uyumlu bir değişiklik meydana gelir. Her üç troponin proteini de myofibrillerin gerilme ve gevşeme süreci içerisinde tamamlayıcı olarak yer alırlar (33, 42). Her bir troponin proteininin de yine alt üniteleri bulunmaktadır. Sığır kalp kasında bulunan Tn-T'nin TnT-1 ve TnT-2 olmak üzere iki alt ünitesi olduğu tespit edilmiştir. Leszky (41) tüm yapının amino asit dizilişini ortaya koyarak, TnT-1 izoformunun daha bol olduğunu vurgulamıştır. İzole edilen total Tn-T'nin yaklaşık % 75'inin TnT-1'in oluşturduğunu rapor edilmiştir. Çalışmaların sonucunda TnT-1 ve TnT-2 arasındaki farklılığın amino terminal bölgelerindeki farklılıktan kaynaklandığı da ortaya konulmuştur (7, 41).

Troponin kompleks proteinlerinin farklı izoformları hem Tn-T hemde Tn-I için kalp ve iskelet kaslarında bulunur. Kalp formları cTn-T ve cTn-I olarak gösterilir. Aminoasit farklılıkları özellikle kalp formlarını tanımlamaya yardımcı olan antikorların üretimine neden olur. Troponin-C kalp için spesifik bir belirleyici değildir. Çünkü Tn-C'nin aminoasit dizilişi hem iskelet ve hem de kalp kaslarında benzerdir (1, 7).

2.2.3. Troponin Analizlerinin Önemi

Kalp hücrelerinin ölümlerini belirlemek amacıyla hem cTn-T hem de cTn-I'nın faydalı bir biyokimyasal gösterge olduğu rapor edilmiştir. Akut miyokardiyal sendrom ve nekrozis sonucunda cTn-T ve cTn-I dolaşıma salınmaktadır (20, 28, 32).

2.2.3.1. Kardiyak Troponin-I

Miyokardiyal dejenerasyonların belirlenmesinde cTn-I'nın önemli bir serolojik ve yüksek oranda spesifik bir belirleyici olduğu bulunmuştur (44, 45). Tek bir aminoasit zincirine sahip olduğundan kalp için spesifiktir. Troponin-I aynı zamanda infarktüslerin ileri

dönemleri veya kardiyak hücre ölümleri için de prognostik bir göstergedir. Bilhassa kardiyak işeminin, kardiyak kontüzyon ve düzensiz angina pectorisin spesifik bir belirleyicisidir (45, 46). Çok küçük kardiyak hasarların belirlenmesinde üst düzeyde duyarlı bir gösterge olduğu bulunmuştur. Troponin I'nın sensitivitesi CK-MB'ninkine eşit veya daha yüksektir. Kalp kökenli Tn-I'nın serumda belirlenme zamanı da CK-MB'ninkine eşittir. Fakat serumda Tn-I düzeyi akut MI'nın başlamasını takiben hızlıca yükselir (5-7 saat) ve yaklaşık 12. saatte serum düzeyleri en üst noktaya ulaşarak, CK-MB'ye göre belirgin şekilde daha yüksek oranda yüksek kalır. Troponin-I birkaç gün sonra ikinci bir pik de yapar. İlk pik sentezlendiği yer olan miyokardial sitozolden serbest troponin'lerin salınımı nedeniyle şekillenirken, ikinci pik dejenere olmuş miyofibrillere bağlı troponinlerin serbest bırakılması ile oluşur. Troponin-I akut MI'dan sonraki 8. güne kadar yükselmiş olarak kalır. Daha sonraki infarktüslerin veya kardiyak ölümlerin bir göstergesi olabileceği rapor edilmiştir (33). Christenson ve ark. (35) MI'lı hastaların teşhisi için ACCESS adı verilen yeni bir cTn-I analiz metodu geliştirmişlerdir. Bu metodun sensitivitesi %88.9 ve spesifitesi %91.8 olarak bulunmuştur. Troponin-I düzeyleri miyokardial dejenerasyonların büyüklüğü ve şiddeti ile doğrudan ilişkilidir. Buna ilaveten anormal Tn-I düzeyleri akut MI'lı 32 hastanın tamamında göğüs ağrısının başlangıcını takiben 12 saat içerisinde yüksek bulunmuştur.

2.2.3.2. Kardiyak Troponin-T

Miyokardiyal hasarlar süresince dolaşıma salınan diğer bir kalp yapısı proteini de cTn-T'dir. Troponin-T faydalı bir kardiyak gösterge olmasına rağmen insanlarda akut MI için CK-MB'den daha duyarlı değildir. Tn-T'nin spesifitesi aynı olaylarda da sınırlıdır. Çünkü bu protein kalp kası kadar iskelet kası hastalıklarında da dolaşıma salınır. Ayrıca nefritli hastaların serumlarında da Tn-T'nin yükseldiği bildirilmiştir (47). Bu bilgiler ışığında CK-MB ile karşılaştırıldığında cTn-T'nin diagnostik bir avantaja sahip olmadığı görülmektedir. Fakat faydalı bir prognostik göstergedir (32). Bertsch ve ark (12) orsiprenalin sülfat vererek ratlarda indükledikleri miyokardiyal hasarın oluşmasından 2 saat sonra hızlı bir cTn-T artışını serumda belirlemişlerdir. Hastalardaki Tn-T düzeyindeki yükselmeler akut MI'lı hastalar için yüksek oranda risk taşır (8). Kliniğe oldukça geç getirilen akut MI'lı hastaların

teşhisi için cTn-T ile birlikte CK-MB'nin belirlenmesinin de çok daha faydalı olabileceği belirtilmektedir (48).

2.2.4. Veteriner Hekimlikte Kardiyak Troponinlerin Diagnostik Önemi

Miyokardiyal hasarlı hastaların değerlendirilmesi için kardiyak göstergelerin yalnız başına veya birlikte belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu göstergeler insan ve hayvanlardaki kardiyak hücre ölümlerinin veya nekrozun en önemli belirleyicileridir. Özellikle kardiyak nekrozun delilleri arasında son yıllarda cTn-I ve cTn-T analizleri başarıyla gerçekleştirilmiştir (49). İnsan hekimliğinde tıpta, kardiyak troponinlerin ve özellikle cTn-I'nın miyokard hasarı tespit ve tahmini ile mortalite oranları ve gelecekteki şekillenebilecek kardiyak hasarların belirlenmesinde altın standart olarak kullanımı yaygınlaşmıştır (50-56). Son veteriner hekimliği yayınlarında ise konjenital kalp hastalıkları (57, 58) dahil olmak üzere edinsel kalp hastalıklarından aritmojenik sağ ventrikül Baumwart ark (59), perikardiyal efüzyon (58, 60, 61), kardiyak kontüzyon (62), deneysel infarktüsü (63), kalp yaralanması pacing, pozitif ve inotropik neden kardiyotoksik ilaçlar (38) ve neoplazi (64) gibi farklı kalp hastalıklı köpeklerde cTn-I konsantrasyonları araştırılmıştır. Kardiyak hasarlı hayvanların teşhisi için kan testleri henüz yeterince tatminkar değildir. Hayvanlarda troponin kompleks proteinlerinin belirlenmesine rağmen, klinik kullanımları hakkında sınırlı sayıda çalışma vardır. Hayvanlardaki çalışmalar özellikle insanlardaki miyokardiyal enfarktüslerin belirlenmesi için laboratuvar hayvanları kullanılarak dizayn edilmiştir (9, 35, 49, 57, 63, 65, 66). O'Brien ve ark (13) insan cTn-I'nı belirlemek amacıyla yeni bir immunoassay metoduyla çeşitli türlerdeki cTn-I'nın doku reaktivitelerini karşılaştırmışlardır (13, 57, 66). Onların verileri, tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmalarının mükemmel bir aday biyogöstergesi olduğunu göstermiştir. Kardiyak Tn-I'nın immunoassay reaktivitesi miyokardium için iskelet kasındakinden daha yüksektir. Ayrıca hayvanlar arasında kardiyak reaktivite belirli oranda farklılık göstermektedir. Büyük memeli hayvanların küçük memeli hayvanlardan 1.7 kat, kuşlardan 10 kat ve balıklardan 100 kat daha büyük bir reaktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Buna karşılık, iskelet kaslarındaki reaktivite de ise memeli hayvanlar ve kuşlar arasında bir fark bulunmamıştır. Büyük memeli hayvanlarda kalp kasının reaktivitesi küçük memelilerdekinden 2 kat, kuşlardakinden ise 8 kat büyük olduğu

bulunmuştur (66). Köpeklerde plazma cTn-I düzeyleri 0.03 ng/ml ile 0.07 ng/ml arasında (ortalama 0.02 ng/ml) olarak belirlenmiştir. Kedilerde ise 0.03 ng/ml ile 0.16 ng/ml arasında (ortalama 0.04 ng/ml) bir düzeyde olduğu bildirilmiştir (13, 14, 57, 65, 66). Hayvanlarda miyokardial hücre hasarını güvenilir bir şekilde belirleyecek yeterli biyokimyasal analizler yoktur. Fakat insanlarda kalp hastalıklarının araştırılmasında hayvan modelleri önemlidir. Aynı zamanda bu testlerin sensitivitesi ve spesifitesi de belirlenmemiştir. Buna rağmen laboratuvar hayvanlarında miyokardiyal hasarın indüklendiği bir kaç deneysel çalışma vardır (6, 7, 9, 11, 12). Fredericks ve ark (9) köpek, maymun, domuz ve ratlardan topladıkları kalp ve iskelet kaslarında kardiyak troponinleri ve CK izoenzimlerini analiz etmişlerdir. Bu çalışma da iskelet kaslarındaki cTn-T ve cTn-I içeriği tüm hayvan türleri için kalp kasındakinden %0.6 düşük bulunmuştur. Aynı şekilde tüm hayvan türleri için iskelet kasındaki CK içeriği kalp kasındakinden daha yüksek bulunmuştur ve onlar çeşitli laboratuvar hayvanlarındaki cTn-T ve cTn-I'nın, miyokardiyal hasarın spesifik belirleyicisi olduğuna karar vermişlerdir. Diğer bir çalışmada O'Brien ve ark (7) cTn-T immunoassayının farklı türlerdeki kardiyak reaktivitesini analiz etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucu cTn-T immunoassayının diagnostik kullanımı serum CK ile eş zamanlı yapılması gerekliliğini göstermiştir (6). Çapraz reaksiyon ve iskelet kasının kalpten daha büyük olan kısmi kütlesi nedeniyle kardiyak hasarlarda belirlenen cTn-T iskelet kasının belirgin yaralanmalarında da hatalı pozitif sonuçlara yol açabilir (7). Koyunlarda deneysel oluşturulan reperfüzyonlu ve reperfüzyonsuz miyokardial infarktüslerin kreatin kinaz ve Tn-T düzeylerinde belirgin artışlara neden olduğu da bulunmuştur (8). Memeli hayvanların miyokardiumu cTn-I immunoassay için yüksek oranda reaktiviteye sahiptir ve bu reaktivite miyokardium için yüksek oranda seçicidir. Kalp kasında, iskelet kasındakinden 1000 kat daha yüksek reaktiviteye sahiptir. Aminoasit dizilişi açısından insan ve hayvanlardaki troponin proteinleri arasında yapısal benzerlikler vardır. Ayrıca hayvanlar arasında da aminoasit dizilişleri benzerdir. Sığır, tavşan ve tavuk cTn-T aminoasit dizilişleri karşılaştırıldığında amino-terminal 13 aminoasit kısmına (tavukların kalp geninin exon 2 ve 3) yakın bir benzerliği olduğu bulunmuştur ve C-terminal 230 kısmına (exon 9-18) büyük oranda benzerdir (11, 67). Bir çalışma da insanlarda kardiyak hasarların teşhisi için geliştirilen cTn-I immunoassay tekniği farklı hayvan türleri arasında test edilmiştir. Bu testle çeşitli türlerdeki

kalp ve iskelet kaslarının farklı reaktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmanın verileri; insanlardaki cTn-I ile sığır kalp kasındaki cTn-I % 96.4, fare ve rat kalbindeki ile % 92.8, tavşan kalbindeki ile %91.4, tavuk kalbindeki ile %71.5 oranında benzer dizilişe sahip olduğunu göstermiştir. Sağlıklı kontrol köpekleriyle karşılaştırıldığında kalp yetmezlikli köpeklerde kardiyak reaktivitede % 32'lik bir azalma olduğu belirtilmiştir ve tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmanın mükemmel bir göstergesi olarak cTn-I bildirilmiştir (68-70).

Sonuçta, gerek cTn-T gerekse cTn-I analizleri, myokardiyal hasarlı hayvanlar için duyarlı ve spesifik bir belirleyici olabilir. Ayrıca şekillenecek kalp kası hastalıklarının başlangıçtan itibaren tahmin edilmesinde kullanılabilir. Evcil hayvanlarda çok çeşitli nedenlerle kalp kasında dejenerasyonlar meydana gelmektedir. Bu nedenlerin başında kardiyotoksik ilaçlar (doxorubicin, isoprenalin), retiküloperitonitis travmatika (RPT), bakteriyel (pastörella, stafilokok, streptokok) ve viral enfeksiyonlar (şap hastalığı), mineral ve vitamin eksiklikleri (kuzuların beyaz kas hastalığı) sayılabilir (44, 71, 72). Güvenilir metodlarla miyokart bozukluklarının belirlenmesi önemlidir. İnsanlarda MI teşhisinde troponinlerin; CK-MB, myoglobin, LDH ve AST'ye göre önemli avantajları bulunduğu için, myokardiyal hastalıklı köpeklerin belirlenmesinde de bu parametreden faydalanılabilir. Veteriner hekimlikte troponinlerin diagnostik ve prognostik avantajlarının belirlenmesi de gereklidir. Ayrıca kalp kası hasarlarında uygulanacak tedavilerin etkinlik oranlarının belirlenmesinde de kullanılabilecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ARAŞTIRMADA KULLANILAN ARAÇ GEREÇ, KİMYASAL MADDELER VE MALZEMELER

Kan Gazı Analiz Sistemi (Irma Truepoint, Germany): Kan PH, pCO₂, pO₂ ve diğer hesaplanan verilerin analizi amacıyla hayvanlardaki asid-baz degesinin ve bu sisteme ait bozukluklarda kalbin ne oranda etkileneceğinin belirlenmesi amacıyla proje kapsamına dahil edilmiştir.

Röntgen Cihazı (Poscom 35 mA Portable X-Ray Unit (South Korea): Kalbin ve çevre organların göğüs kafesi içerisindeki pozizyonu ile kalp ebatlarının değerlendirilmesi amacıyla kullanıldı

Elektrokardiyografi cihazı (Cardioline): Kalp hastalıklı köpeklerde II. ekstremite derivasyonlarının alınması amacıyla kullanıldı.

M Mod Ultrasonografi Cihazı (Sonosite marka 180 model, SonoSite Inc., USA): Kalp ve odacıklarını ebat ve büyüklükleri ve akım şiddetleri ile anormal yapıların belirlenmesi için kullanıldı.

ELISA okuyucusu (Multiscan Spectrum Thermo, Finlandiya): cTn-I konsantrasyonlarını hasta ve sağlıklı sığırların serumlarında ng/ml düzeyinde belirlemek için kullanılan cihaz.

Olympus AU 2700 marka Otoanalizör ve Kitleri: Çalışma gruplarından elde edilen serumlarda CK-MB, LDH analizlerinin yapıldığı otoanalizör ve orijinal ticari kitleri.

100 ve 1000 µl'lik Otomatik Pipetler: Troponin ELISA kitindeki analizlerde kullanıldı.

cTn-I ELISA kit (96lık plate): cTn-I'nın serum düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlenmesi belirlenmesi

cTn-T analizleri Troponin T Stat kitleri (Roche, Germany) ile Electrochemiluminescence immunoassay tekniği kullanılarak Cobas e 411 cihazında yapılmıştır.

cTn-I pratik kardi kit (30 luk kutu): Hastalarda cTn-I varlığının belirlenmesi amacıyla kullanıldı

Biyokimya Kitleri (CK-MB 8x20, LDH 10x15, AST 8x30, ALT 8x30, Total protein 2x500, Albümin 2x200, Glikoz 6x250, Üre 5x30, Kreatinin 2x125, ALP 8x30, GGT 8x30, Amonyak 6x20, Kalsiyum 2x200, Fosfor 2x125, Magnezyum 2x250): Kalp hastalıklı köpeklerde sistematik muayenenin desteklenmesi, sistem ve organlardaki bozuklukları belirlemek amacıyla yapılacak biyokimya analizlerinde kullanıldı.

Serbest T3 EIA 96 test: Troidal fonksiyonların ortaya konulması amacıyla kullanıldı

Serbest T4 EIA 96 test: Troidal fonksiyonların ortaya konulması amacıyla kullanıldı

Kan gazları analiz kartuşu tekli (Irma True Point CC kartuş): Kan gazlarını belirlemek amacıyla kullanıldı.

Canine parvovirus test kiti 10 (Orgenics, Israel): Köpek parvovirüs, antijenlerin belirlenmesi amacıyla pratik kitler kullanıldı.

Canine distemper test kit (Orgenics, Israel): Köpek distemper antijenlerin belirlenmesi amacıyla pratik kitler kullanılacaktır

Canine Heartworm test kit (Orgenics, Israel): Köpek drofilariozisinin teşhisinde antijenlerin belirlenmesi amacıyla pratik kitler kullanılacaktır

Plazma İçin Vakumlu Heparinli Tüp (10 ml): Heparin içeren kan alma tüpleri

Serum Tüpü Cam Vakumlu Antikoagulantsız (10 ml): Antikoagulant içermeyen kan alma tüpleri

Ependorf Tüpü (1,5 ml): Serum ve heparinli kan örneklerinin analiz işlemlerine kadar saklandıkları tüpler.

Holder ve Uygun İğne: Sığırların vena jugularisinden kan almak amacıyla kullanılan iğne takımları.

Lateks nonsteril eldiven (100 lük): Muayene ve numune toplama esnasında kullanıldı.

Multikanal pipet 12 li 40-350ml ayarlanabilir: ELİSA işlemleri için kullanıldı

1-5 ml ayarlanabilir otomatik pipet: ELİSA işlemleri için kullanıldı

Otomatik pipet ucu mavi: ELİSA analizleri için kullanıldı

Otomatik pipet ucu sarı: ELİSA analizleri için kullanıldı

Otomatik pipet ucu 5ml: ELİSA analizleri için kullanıldı

Santrifüj (10 mlx20 Tüplük): Antikoagulantsız kan örneklerinde serum çıkarılması için kullanılan santrifüj.

Röntgen filmi 18x24: Röntgen işlemlerinde kullanılacaktır.

Röntgen filmi 24x30: Röntgen işlemlerinde kullanılacaktır

EKO kağıdı 110x81: EKO işlemlerinde kullanılacaktır

3.2. ARAŞTIRMADA KULLANILAN HAYVANLAR/HAYVAN MATERYALI

Sağlıklı köpeklerde kalp Troponinlerinin kandaki düzeylerini belirlemek amacıyla yavru ve yetişkin köpeklerden plazma ve serum örnekleri toplandı. Bu amaçla Kayseri iline yaklaşık 25 km uzaklıktaki Büyükşehir Belediyesi köpek barınağındaki köpekler proje kapsamına dahil edildi. Buradaki köpeklerin yaş ve diğer verileri kaydedilerek, yaşlarına göre 1-3 ay, 3-6 ay, 6-12 ay, 1-5 yaş ve 5-10 yaş olmak üzere 5 grup olacak şekilde numuneler kaydedildi. Kayseri ve civarından Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine getirilen kardiyak ve/veya nonkardiyak nedenlerle oluşan, farklı yaş ve ırklardaki çeşitli kalp hastalıklı köpekler de diğer çalışma grubunu oluşturdu. Primer kalp hastalığı bulunan ve kalpte kardiomyopati, aritmi oluşturmaları muhtemel diğer sistem bozuklukları (asid-baz, üremi, hipoksi, gastrointestinal sistem hastalıkları, septisemi, troidal bozukluklar, parvoviral enteritis-myokarditis, distemper, drofilariozis) için bu köpeklerden kalp kası troponinleri ve ilave olarak biyokimyasal parametrelerin analizleri için serum ve plazma örnekleri toplandı. Kalp hastalığı bulunan gruba rutin barınak ziyaretlerinde belirlenen hasta köpeklerden toplanan numuneler de ilave edildi.

Hasta köpeklerin klinik muayeneleri yapılarak, kalp radyografileri alındı. Elektrokardiyografi ve ekokardiyografi uygulamaları da ayrıca uygulandı.

3.3. ANAMNEZİN ALINMASI

Hasta hayvan sahipleri ile yapılan görüşmelerde hastanın ve hastalığın geçmişi, bakım besleme, bulundukları ortam ve aşılama ile ilgili bilgiler alınmıştır.

3.4. KLİNİK MUAYENE

Klinik muayene amacıyla köpeğin genel görünümü, vücudun tutuluşu, kıl örtüsünün muayenesi, lenf yumrularının muayenesi, mukozaların muayenesi (ağız, konjunktiva, vajina), vücut ısı, kalp atım sayısı, solunum sayısı, rumen hareketleri sayısı ve kalp oskültasyon bulguları belirlendi. Tüm sistemlerin düzenli klinik muayeneleri yapıldı. Vücut sıcaklığı, kalp atım sayısı ve solunum sayıları alındı. Her bir hasta köpek için klinik muayeneden elde edilen bulgular protokole kaydedildi.

3.5. RADYOLOJİK, ELEKTROKARDİYOGRAFİK VE EKOKARDİYOGRAFİK ANALİZLER

Radyolojik muayene için Poscom 35 mA Portable X-Ray Unit (South Korea) cihazı kullanıldı. Köpeklerin sağ latero-lateral (L/L) ve ventro-dorsal (V/D) radyografileri alındı. Radyografik muayeneden sonra hayvanların elektrokardiyografi cihazı (Cardioline) ile I., II. ve III. derivasyonları yazdırıldı. Elektrokardiyogram yazdırılırken aygıtın hızı 25 mm/sn olarak ayarlandı. Tüm derivasyonlardaki değişimler gözden geçirildi fakat asıl değerlendirme II. derivasyonda yazdırılan bulgulara göre yapıldı. Elektrotların yerleştirileceği bölgelere elektrot jeli sürüldü. Sonra timsah ağızlı, küçük kısaç elektrotlar ön bacaklarda dirsek ekleminin, arka bacaklarda ise diz ekleminin biraz üzerine tutturuldu. Yazdırılan EKG'lerin her birinde dalgaların şekli incelenerek P, R ve T dalgalarının amplitütleri; P, T ve QRS kompleksinin süreleri ve PQ ve QT aralıklarının süreleri ile dakikadaki kalp atım sayıları incelendi.

Ekokardiografik muayenede, Sonosite marka 180 model (SonoSite Inc., USA) renkli Doppler ultrasonografi cihazı ve bu cihaza ait 4,0-7,0 MHz' lik mikrokonveks prob kullanıldı. Ekokardiografik muayene sırasında deri ile prob arasına "Contact Gel" marka transmisyon ultrason jeli uygulandı. Elde edilen 2-D ekokardiografik görüntülerin ve grafiksel Doppler bulgularının belgelenmesinde Sony UP-895CE marka siyah-beyaz printer, renkli Doppler kayıtlarının belgelenmesinde ise Sony UP-20 marka renkli printer kullanıldı. Kalbin ekokardiografik muayenesi için sağ ve sol taraftan 3.-6. kostalar arası bölgenin kılları traş edildi. Hayvanlar önce sağ yanına yatırılarak sağ parasternal kısa eksen ve uzun eksen pencerelerinden muayene edildi. Bu pencerelerde; sol ventrikül'ün M-mod ve 2-D mod ekokardiografik muayenesi yapıldı. Daha sonra prob kalbin basisine doğru yönlendirilerek mitral kapakların, bundan sonra da kranial' e yönlendirilerek pulmoner kapağın 2-D, Pulsed Wave (PW) Doppler ve renkli Doppler muayeneleri yapıldı. Bu işlemten sonra hayvanlar sol yanına yatırılarak sol parasternal uzun eksen görüntüsünde mitral ve trikuspidal kapaklar ekokardiografik, PW Doppler ve renkli Doppler teknikleri kullanılarak muayene edildi.

3.6. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Kalbi etkileyebilecek bir bozukluk olduğu belirlenen ve çalışmaya dahil edilecek hayvanlardan muayenenin yapıldığı gün Troponin testleri için *Vena cephalica*

antebrachi'den heparinli 3-4 ml ve diğ er biyokimyasal analizler için 2 ml antikoagülsüz tüplere tekniğ ine uygun olarak kan örnekleri toplandı. Ayrıca hematolojik muayeneler için 2 ml heparinli kan örneğ i vakumlu deney tüplerine konuldu. Kan örnekleri, serum ve plazmaların elde edilmesi için 3000 devirde 15 dakika santrifüj iş lemine tabi tutuldu. Elde edilen numuneler ayrı ayrı polietilen tüplere aktarıldı ve numaralandı. İdrar analizleri için steril idrar sondalarıyla tekniğ ine uygun olarak 10 ml idrar örnekleri alındı.

3.7. KALP TROPONİNLERİ VE BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.7.1. Pratik Kardiyak Testlerin Değ erlendirilmesi

Kliniğ e getirilen hasta hayvanların kanındaki troponinlerin varlığ ının pratik olarak belirlenmesi amacıyla kalp kökenli Troponin-I için piyasada satış a sunulmuş olan Card-I kit Combo test kitlerinden yararlanıldı. Serumlar elde edildikten hemen sonra yaklaşık 30 dakika içerisinde pratik kitlerin örnek kuyucuğ una 4 damla (150 µL) her bir örnekten konuldu. Sonuçlar kitlerin okuma penceresinde 15 dakika içerisinde çift renkli hattın görölmesi ile kalp kası hasarı yönünden pozitif olarak değ erlendirildi. Okuma penceresinde tek renkli hat, negatif olarak değ erlendirildi. Troponin-T'nin belirlenmesi amacıyla yine piyasad an ticari olarak temin edilen Tromp-T test kitinden faydanıldı. Bu test için heparinli kan (4 damla veya 150 µL) kullanıldı. Klinik tanı da myokardı etkileyen herhangi bir kalp hastalığ ı teşhisi konulan köpeklerden alınan heparinli kan, cTn-T analizi için özel olarak dizayn edilmiş Tromp-T test kitlerinin prosedüründe belirtildiğ i gibi 150 µl özel pipetiyle alınarak, kitin özel gözüne konuldu ve 20 dakika sonra cTn-T ye ait kırmızı bandın oluşmasına göre testin sonucu değ erlendirildi. Bundan hemen sonra aynı köpekt en elde edilen serum örnekleri cTn-I analizi için hazırlandı. Card-I kit Combo test prosedüründe belirtildiğ i gibi bu serumlardan kitin özel pipetiyle 3-4 damla (150 µl) alınarak aynı şekilde kitin özel gözüne damlatıldı, 10-15 dakika sonra cTn-I'e ait pembe bandın belirmesi ve kontrol bandındaki açık pembe reng in oluşması ile testin pozitif olduğ una karar verildi. Pembe reng in oluşması kan cTn-I düzeyinin miktarının artmasıyla 0,3 µg/L nin üzerine çıktığ ının göstergesi olarak değ erlendirildi. Pozitif belirlenen kitlerin fotoğrafları çekilerek kaydedildi. Kliniğ e getirilen köpeklerin klinik muayene, kalp ekokardiyografileri, röntgen ve EKG uygulamaları aynı gün içerisinde yapıldı ve tüm sonuçlar kaydedildi. Toplanan serum

ve plazma örneklerinin analizleri, takiben 3 ay içerisinde ELİSA ve diğer biyokimya analizlerine tabi tutuldu. Gerek sağlıklı (Kontrol Grubu) gerekse hasta köpeklerden (Çalışma Grubu) toplanan serum ve plazma örnekleri Troponin analizleri için -20 °C de analizlerin yapılacağı döneme kadar derin dondurucuda saklandı.

3.7.2. cTn-I Konsantrasyonlarının Analizleri

Kardiyak Tn-I konsantrasyonlarının belirlenmesi ELİSA tekniği ile yapıldı. Troponin I analizleri monoklonal antikorla kaplanmış 96 testlik hazır ticari ELİSA kitleri ile kitlerin prosedürlerine uygun olarak Veteriner Fakültesi Biyokimya anabilim dalı laboratuvarında yapıldı.

3.7.2.1. cTn-I Analiz Prensipi

Bu analiz yöntemi, molekül üzerinde farklı antijenik belirleyicilere karşı yönlendirilen dört farklı monoklonal antikorları kullanmaktadır. Üç adet fare monoklonal anti-troponin-I antikorları solid faz immobilizasyonu için kullanılır. Dördüncü antikor ise antikor-enzim konjugat solusyonundaki antikordur. Test örnekleri bu dört antikorla birlikte reaksiyona maruz bırakılır. Solid faz (Plate üzerindeki kuyucuklar) üzerindeki antikorlar ve enzim bağlı antikorlar arasında Troponin I molekülleri sandviç modeli halini alır. İnkübasyon ve yıkamaları takiben stop solusyonları ilavesi ile uygun dalga boyundaki Optik dansitelerin okunması ile sonuçlanır.

3.7.2.2. cTn-I Analiz Prosedürü

Kitin prosedüründe belirtildiği üzere, özel tutucuya tüm kuyucuklar yerleştirildi. Bir ml distile su ile liyofilize standartlar sulandırıldı. Yavaşca 20 dakika karıştırıldı. Yıkama tamponu bulunan şişe 475 ml distile suya ilave edildi. Standartlar ve örnekler 100 µl olacak şekilde belirlenen kuyucuklara dağıtıldı. Her bir kuyucuğa enzim 100 µl enzim konjuge ayıraç konuldu. 30 sn süresince tamamen karışması sağlandı. Oda ısısında 90 dakika inkübasyona bırakıldı. Plate çöpe hafifçe vurularak bu karışımın boşalması sağlandı. 300 µl 1x yıkama solusyonu ile 3 kez yıkandı ve kurutma kâğıdı ile kurutuldu. Her bir kuyucuğa 100 µl TMB ayırıcı konuldu ve nazikçe 5 saniye karıştırıldı. Oda ısısında 20 dakika tabi tutuldu. 100 µl stop solusyonu her bir kuyucuğa eklenerek 30 saniye hafifçe karıştırıldı ve oluşan mavi renklerin sarıya dönüşümü gözlemlendi. Onbeş dakika içerisinde ELİSA

okuyucusunda 450 nm okuma yapıldı. Standart eğrisi çizdirildi (Şekil 3.1) ve sonuçlar ng/ml düzeyinde belirlendi.

3.7.3. cTn-T Konsantrasyonlarının Analizleri

Kardiyak Tn-T'nin kantitatif tayinleri ise, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Laboratuvarında Troponin T Stat Elecsys 04660307 (Lot No: 15263501, Roche) kitleri ile Electrochemiluminescence immunoassay tekniği kullanılarak Cobas e 411 cihazında yapıldı.

3.7.3.1. cTn-T Analiz Prensipli

Test sandviç prensibi ile toplam 9 dakikalık test süresinde tamamlanmaktadır.

Birinci inkübasyon için 15 µl numune, troponin T'ye spesifik biyotinli monoklonal antikor ve rutenyum kompleksi -Tiris (2,2'-bipiridil) rutenyum (II)-kompleks- ile işaretlenmiş troponin T ye spesifik monoklonal antikor bir sandviç modeli oluşturmak için reaksiyona girer. İkinci inkübasyon streptavidin kaplı mikropartiküller eklendikten sonra biyotin ile streptavidinin etkileşimi aracılığıyla kompleks katı faza bağlanmış hale gelir. Bu reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyine manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Daha sonra bağlanmamış maddeler ProCell ile uzaklaştırılır. Elektrod üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonuna neden olup bu bir foton sayıcı ile ölçülür. Sonuçlar 2-noktalı kalibrasyon ile cihaza özel olarak oluşturulmuş bir kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu aracılığıyla edinilen bir eğri ile ng/ml cinsinden tayin edilir.

3.7.4. Biyokimyasal Analizler

Kliniğe getirilen hasta köpeklerin genel sağlık kontrolleri ile etkilenen sistem ve organların tanımlanabilmesi amacıyla toplanan Aspartat Aminotransferaz (AST), Alanin Aminotransferaz (ALT), Alkalen Fosfataz (ALP) ve Gama Glutamiltransferaz (GGT) aktiviteleri ile Albümin (ALB), Total protein (TP), Glikoz, Amonyak, Kan Üre Nitrojen (BUN), Kreatinin, Kalsiyum düzeyleri belirlendi. Daha çok kalp kası hücrelerine özgü iki enzim olan Laktat dehidrogenaz (LDH) ve Kreatin Kinaz (CK) aktiviteleri de serum örneklerinde belirlendi. Troid hormonlarının (FT3, FT4) analizleri ticari kitlerle yapıldı.

3.7.5. İstatistiksel Analizler

Verilerin öncelikle normal dağılıma sahip olup olmadıkları Kolmogrov-Smirnov testi ile belirlendi. Tek yönlü ANOVA uygulandı. Grupların kontroller ile karşılaştırılmasında Dunnet, grup içi cTn pozitif ve negatifler arasında ise Tuckey uygulandı. Veriler tablolarda ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verildi. Verilerin istatistiksel analizleri amacıyla Minitab istatistik paket programı (Versiyon 11.2, 1996) kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. HEMATOLOJİK VE KAN GAZLARI ANALİZ SONUÇLARI

Gruplara ait hematoloji, kan gazları ve biyokimya bulguları aşağıdaki tablolarda belirtilmiştir. Hematoloji bulguları dikkate alındığında, cTn pozitif belirlenenler ile cTn negatif belirlenen grup arasında istatistiksel açıdan önemli farklar belirlenmesine rağmen, bunların anlamlı farklılıklar olmadığı değerlendirilmiştir. Tablo 4.1 deki verilerde WBC sayısı cTn pozitif gruplarda yüksek olduğu gözlenmiştir. Solunum sistemi hastalığı olan köpeklerde cTn pozitif olanların pH değerlerinin diğerlerine ve referans verilerine göre düşük olduğu, ayrıca pCO₂ değerinin de buna paralel yüksek olduğu bulunmuştur. Diğer gruplardaki veriler normal sınırlarda seyretmiştir (Tablo 4.2). Sindirim sistemi hastalığı olan grupta cTn negatif olanlarda bir miktar baz açığı belirlenmiş, bununla uyumlu total bikarbonat miktarının da düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.3).

4.2. SERUM BİYOKİMYA ANALİZİ SONUÇLARI

Biyokimyasal parametrelerde CK ve LDH dışında anlamlı değişiklikler izlenmemiştir. Özellikle kalp hastalıkları belirlenen grupta bu iki parametrede önemli oranda yükselmeler bulunmuştur. Buna göre; cTn pozitif belirlenen köpeklerde bu iki parametre de hem cTn negatif hem de kontrol grubu verilerinden istatistiksel açıdan önemli oranda ($p < 0.001$) yüksek belirlenmiştir (Tablo 4.4). Diğer biyokimyasal bulgular Tablo 4.4 ve 4.5 de verilmiştir. Her üç gruptaki ortalama AST ve ALT aktiviteleri cTn pozitif belirlenen alt

grupta, kontrol ve cTn negatif olan köpeklerin ortalama verilerinden istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).

Tablo 4.1. Solunum, Sindirim ve dolaşım sistemi hastalığı bulunan gruplarda, Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerin ortalama hematolojik veriler (I)

GRUPLAR	Pratik Kit Sonucu	RBC $\times 10^6/\mu\text{L}$	HcT %	WBC $\times 10^3/\mu\text{L}$	Hgb g/dl	Plt $\times 10^3/\text{mm}$	MCV pg	MCH pg	MCHC g/dl	RDW %
Grup I n= 10	Tn (+)	5,30 $\pm$ 0,88	33,40 $\pm$ 6,23	27,20 $\pm$ 5,87	11,10 $\pm$ 2,01	359 $\pm$ 99,8	63,00 $\pm$ 4,56	21 $\pm$ 1,45	33,30 $\pm$ 2,35	15,50 $\pm$ 4,76
	Tn (-)	5,34 $\pm$ 0,82	35,10 $\pm$ 7,94	15,68 $\pm$ 4,65	12,36 $\pm$ 2,44	273,60 $\pm$ 97,86	65,40 $\pm$ 5,72	23 $\pm$ 1,65	35,20 $\pm$ 1,11	16,12 $\pm$ 5,28
	P value	0,47	0,33	0,001	0,20	0,07	0,18	0,03	0,04	0,40
Grup II n= 18	Tn (+)	8,25 $\pm$ 0,97	34,25 $\pm$ 7,31	25 $\pm$ 6,98	17,2 $\pm$ 4,56	324,35 $\pm$ 124,36	41,51 $\pm$ 7,32	20,84 $\pm$ 3,65	50,21 $\pm$ 3,87	15,31 $\pm$ 4,65
	Tn (-)	5,12 $\pm$ 0,72	32,84 $\pm$ 6,33	11,82 $\pm$ 14,77	11,89 $\pm$ 2,63	366,22 $\pm$ 141,44	64,21 $\pm$ 10,15	23,26 $\pm$ 4,25	36,02 $\pm$ 1,71	20,01 $\pm$ 5,49
	P value	0,00	0,67	0,01	0,001	0,41	0,001	0,001	0,001	0,052
Grup III n= 20	Tn (+)	7,25 $\pm$ 3,38	40 $\pm$ 5,36	13,55 $\pm$ 0,78	15,5 $\pm$ 3,54	436,35 $\pm$ 121,2	46,38 $\pm$ 8,65	55,17 $\pm$ 10,21	38,75 $\pm$ 3,21	18,23 $\pm$ 5,21
	Tn (-)	2,32 $\pm$ 0,98	15,50 $\pm$ 2,21	10,70 $\pm$ 0,69	6,10 $\pm$ 1,56	654,00 $\pm$ 154,21	66,90 $\pm$ 11,23	26,30 $\pm$ 5,23	39,30 $\pm$ 2,24	17,10 $\pm$ 4,36
	P value	0,001	0,001	0,056	0,001	0,001	0,001	0,001	0,23	0,54

Tablo 4.2. Solunum, Sindirim ve dolaşım sistemi hastalığı bulunan gruplarda, Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerin ortalama kan gazı ve elektrolit düzeyleri (II)

GRUPLAR	Pratik Kit Sonucu	Vücut Sıcaklığı °C	pH	pCO ₂ mmHg	pO ₂ mmHg	Na mM/L	K mM/L	iCa mM/L
Grup I n= 10	Tn (+)	36,60±2,08	7,250±0,011	55,20±0,00	36,80±0,00	143,80±0,00	4,89±0,56	1,43±0,06
	Tn (-)	38,40±0,99	7,370±0,027	41,23±5,52	48,30±9,88	149,87±7,61	4,23±0,34	1,53±0,07
	P value	0,10	0,03	0,03	0,08	0,12	0,27	0,03
Grup II n= 18	Tn (+)	37,3±0,81	7,391±0,06	56±11,20	27,7±11,20	139,75±3,18	4,24±0,07	1,10±0,18
	Tn (-)	38,88±0,66	7,25±0,09	45,2±6,76	41,44±10,52	140,27±9,83	3,96±0,57	1,48±0,07
	P value	0,01	0,19	0,05	0,05	0,45	0,12	0,0001
Grup III n= 20	Tn (+)	38,9±0,71	7,448±	38,6±	48,3±	138,7±	3,93±0,68	1,25±
	Tn (-)	38,18±1,54	7,364±0,07	41,26±5,53	58,06±18,64	144,84±5,75	4,50±1,12	1,35±0,39
	P value	0,21	0,01	0,01	0,01	0,31	0,11	0,01

Tablo 4.3. Solunum, Sindirim ve dolaşım sistemi hastalığı bulunan gruplarda, Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde ortalama kan gazı ve elektrolit düzeyleri (III)

GRUPLAR	Pratik Kit Sonucu	HCO ₃ mM/L	TCO ₂ mM/L	Beb mM/L	Beecf mM/L	O ₂ sat %
Grup I n= 10	Tn (+)	24,60±8,23	26,40±7,31	-4,30±0,98	-3,10±2,65	66,50±12,3
	Tn (-)	23,00±1,78	24,22±2,00	-1,88±0,79	-2,13±1,34	73,70±17,46
	P value	0,10	0,07	0,001	0,16	0,21
Grup II n= 18	Tn (+)	34,45±11,489	36,1±11,893	7,5±10,161	9,55±12,297	38,925±27,475
	Tn (-)	19,66±4,48	20,91±4,61	-6,97±5,46	-7,20±5,77	59,13±15,92
	P value	0,01	0,001	0,01	0,01	0,02
Grup III n= 20	Tn (+)	26,1±5,31	27,2±6,45	2,6±1,65	2,4±2,36	82,6±17,32
	Tn (-)	22,64±1,63	23,82±1,61	-2,14±2,53	-1,26±3,40	80,22±19,43
	P value	0,45	0,23	0,01	0,05	0,11

Tablo 4.4. Solunum, Sindirim ve dolaşım sistemi hastalığı bulunan gruplarda, Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde ortalama biyokimyasal parametrelerin düzeyleri (I)

GRUPLAR	Pratik Kit Sonucu	AST IU/L	ALT IU /L	GGT IU /L	ALP IU /L	LDH IU /L	CK IU /L	ÜRE mg/dl
Grup I n= 10	Tn (+)	4,33±3,99 a	11,73±3,23 a	2,15±2,28	34,99±31,72	21,87±11,50	27,21±12,12	44,51±23,14
	Tn (-)	0,44±0,30 b	0,62±0,53 b	1,47±0,59	31,07±10,36	13,70±12,98	30,41±5,13	50,23±10,21
	Kontrol	0,55±0,31 b	0,57±0,30 b	1,05±0,55	29,74±8,45	28,51±13,33	30,88±10,97	31,67±11,12
Grup II n= 18	Tn (+)	2,11±1,20 c	2,23±0,08 c	0,48±0,01	31,835±3,19	44,96±17,35	22,635±7,95	42,69±18,23
	Tn (-)	0,44±0,28 d	0,59±0,65 d	1,08±0,55	38,63±12,19	28,80±14,99	26,70±8,89	61,89±22,75
	Kontrol	0,70±0,58 d	0,63±0,54 d	1,14±0,52	40,06±9,52	38,72±18,89	22,61±15,31	37,96±13,91
Grup III n= 20	Tn (+)	21,05±1,21 e	15,08±6,35 e	9,07±4,63 a	88,8±27,21 a	89,94±27,58 a	500,02±125,14 a	41,29±8,46
	Tn (-)	1,04±0,34 f	0,49±0,42 f	0,56±0,32 b	22,73±12,29 b	13,24±12,70 b	29,23±7,29 b	56,23±10,08
	Kontrol	0,84±0,95 f	1,13±3,67 f	1,10±0,59 b	44,22±163,72 b	35,78±41,30 b	27,76±7,90 b	42,42±16,43

Her bir grubun aynı sütundaki farklı harfler istatistiki farkı göstermektedir. İstatistiksel önem derecesi $p<0.001$ düzeyindedir.

Tablo 4.5. Tn (+) ve Tn (-) belirlenen köpeklerde ortalama biyokimyasal parametrelerin düzeyleri (II)

GRUPLAR	Pratik Kit Sonucu	TP g/dl	Alb g/dl	Glikoz mg/dl	Ca mg/dl	P mg/dl	Mg mg/dl	Kreatinin Mg/dl
Grup I n= 10	Tn (+)	4,33±2,13	3,15±1,48	86,05±46,50	7,88±4,01	4,38±2,09	2,27±1,17	0,57±0,26
	Tn (-)	5,49±0,78	3,91±0,37	106,14±14,1	9,88±0,26	5,25±0,91	2,62±0,37	0,70±0,23
	Kontrol	5,99±1,28	3,87±0,53	76,60±18,74	9,77±0,70	5,43±0,70	3,07±0,42	0,88±0,55
Grup II n= 18	Tn (+)	5,22±3,21	3,71±1,43	103,76±25,32	9,805±0,12	6,05±0,00	2,97±0,00	0,88±0,34
	Tn (-)	5,69±0,76	3,83±0,45	115,21±19,0	9,75±0,66	6,04±0,42	3,12±0,67	0,72±0,38
	Kontrol	5,55±1,22	3,53±0,44	71,97±17,66	9,37±0,56	5,79±0,46	2,46±0,65	0,51±0,32
Grup III n= 20	Tn (+)	6,22±0,80	3,91±0,28	104,34±12,1	10,1±0,3	4,13±1,21	3,29±0,28	0,68±0,14
	Tn (-)	5,99±0,84	3,86±0,43	102,47±34,6	9,80±0,34	5,45±0,56	3,19±0,27	0,74±0,29
	Kontrol	7,24±0,82	3,96±0,41	71,46±19,12	10,01±0,26	4,40±0,80	3,39±0,52	0,90±0,37

4.3. HASTALARIN DAĞILIMI VE PRATİK KARDİYAK TROPONİN KİT SONUÇLARI

Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları kliniğine, 2007 ve 2009 yılları arasında getirilen toplam 48 hasta köpek bu projeye dahil edilmiştir. Bu hastalara konulan teşhis ve hasta sayıları; Bronşitis (2), Rinitis-Trakeitis (1), Parvoviral enfeksiyon (16), Hemorajik enteritis (2), Distemper enfeksiyonu (7), Ventriküler hipertrofi (5), Atriyal hipertrofi (3), Anemi (1), Kalp yetmezliği (3), Dilate kardiyomyopati (7), Endokardial kanama (distemper'e bağlı) (1) dır. Bu hastalıklar temelde dolaşım, sindirim ve solunum sistemi hastalıkları olarak sınıflandırıldı. Buna göre vakaların 20'si dolaşım, 18'i sindirim ve 10'u solunum sistemine aitti. Solunum sistemi hastalıkları içerisinde pratik diagnostik kitlerle belirlenen distemper (7/10), sindirim sistemi hastalıkları içerisinde köpek parvovirus (16/18) vakaları daha ağırlıklı idi. Dolaşım sistemi hastalıkları; klinik belirtiler, elektrokardiyografi ve ekokardiyografi sonuçlarına göre teşhis edildi. Solunum sistemi, sindirim sistemi ve kalp hastalıklarının dağılımı aşağıda sırasıyla verilmiştir (Tablo 4.6, 4.7 ve 4.8). Ayrıca tüm hasta ve kontrol gruplarında tiroid hormon düzeyleri de (T3, T4) belirlenmiştir (Tablo 4.12). Kliniğe gelen vakaların proje kapsamına alınmasına karar verildikten sonra yapılan pratik kit sonuçları da kaydedilerek, fotoğraflanmıştır. Dolaşım sistemi hastalıkları ve pratik cTn sonuçları ile cTn pozitif hayvan sayıları aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.6. Solunum sistemi hastalıkları ve pratik cTn sonuçları

Solunum Sistemi Hastalıkları	n	cTn-I (n)	cTn-T (n)
Bronşitis, Dispne	2	- (2)	- (2)
Rhinitis, Trakeitis	1	+	-
Distemper, Agoni, endokardda kanama	7	+ (4) -(3)	+ (4) -(3)
TOPLAM	10	(+) 5	(+) 4

Tablo 4.7. Sindirim sistemi hastalıkları ve pratik cTn sonuçları

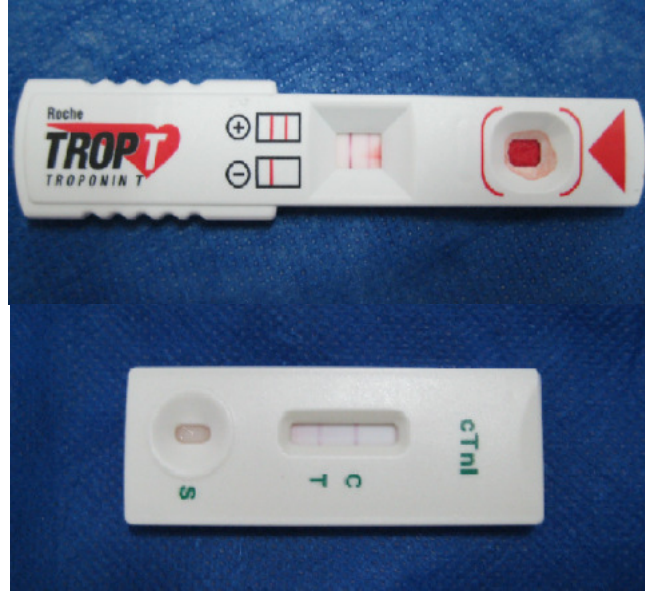
Sindirim Sistemi Hastalıkları	Oluşan Bozukluk	n	cTn-I	cTn-T
Parvoviral enfeksiyon	Myokarditis	5	+ (5)	+ (5)
	Enteritis	11	-	-

Diğer Enteritis	Hemoraji (Bağırsak kanaması)	2	-	-
TOPLAM		18	(+) 5	(+) 5

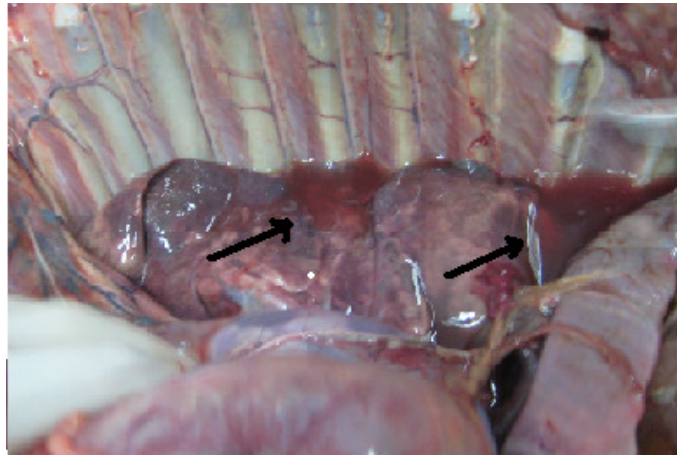
Tablo 4.8. Kardiyovasküler sistem hastalıkları ve pratik cTn sonuçları

Kardiyovasküler Problemler	Patolojik Tanım	n	cTn-I (n)	cTn-T (n)
Dilatekardiyomyopati	Konjestif Kalp Yetmezliği	5	+ (5)	+ (5)
Hafif dilate kardiyomyopati	Mitral kapakta 2. derece yetmezlik	2	+ (2)	- (2)
	Solunum güçlüğü yorulma	2	+ (2)	+ (2)
Sol ventrikül dilatasyonu	pleural efüzyon	2	+ (2)	- (2)
Sağ ventrikül dilatasyonu	Konjestif Kalp yetmezliği	3	+ (3)	- (3)
	Pulmoneraortik stenoz, Mitral kapak yetmezliği	1	+	?+
Şiddetli Kalp yetmezliği,	hemoabdomen	2	- (2)	- (2)
Diyastolik kalp yetmezliği,	perikardiyal efüzyon	3	-	-
TOPLAM		20	+ (15)	+ (7)

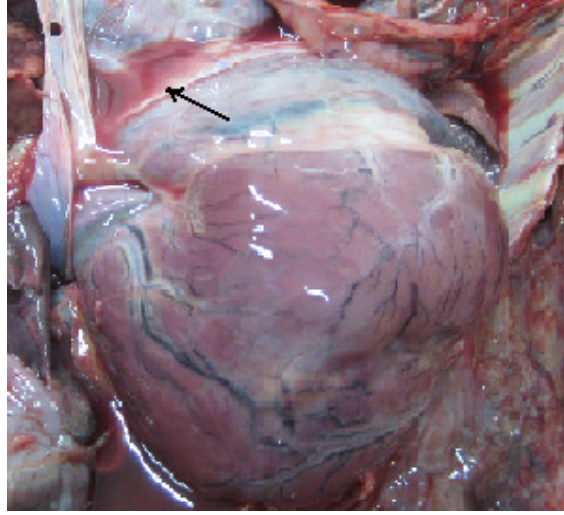
?+: Şüpheli pozitif



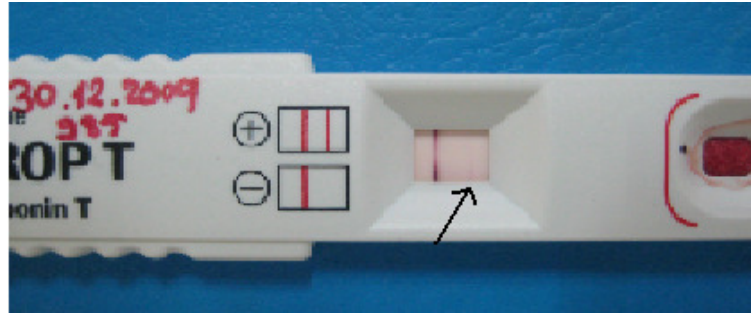
Şekil 4.1. 14 yaşlı kanlı ishal ve kanlı kusma şikayetleri (Hemorajik gastroenterit) olan bir terierde üstte pozitif cTn T, altta pozitif cTn I (Okuma pencerelerinde çift hat)



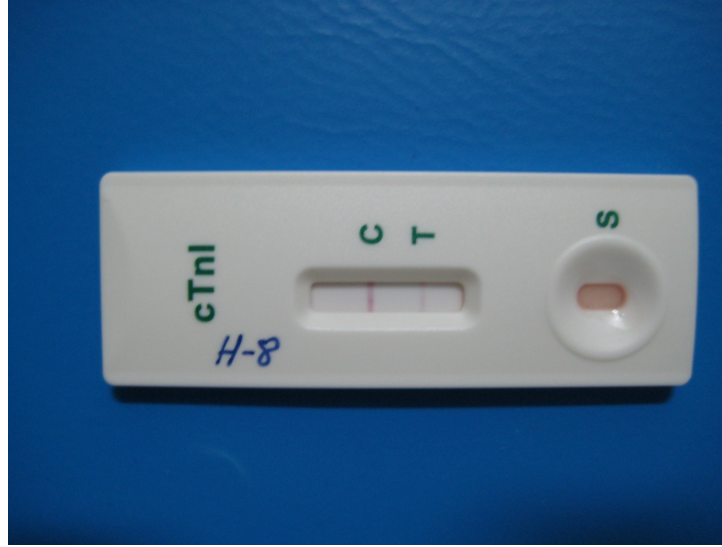
Şekil 4.2. Dilatekardiyomyopati 4 yaşlı kangal ırkı bir köpeğin nekropsi bulgusu: siyah oklar göğüs boşluğunda sıvı birikimini göstermektedir.



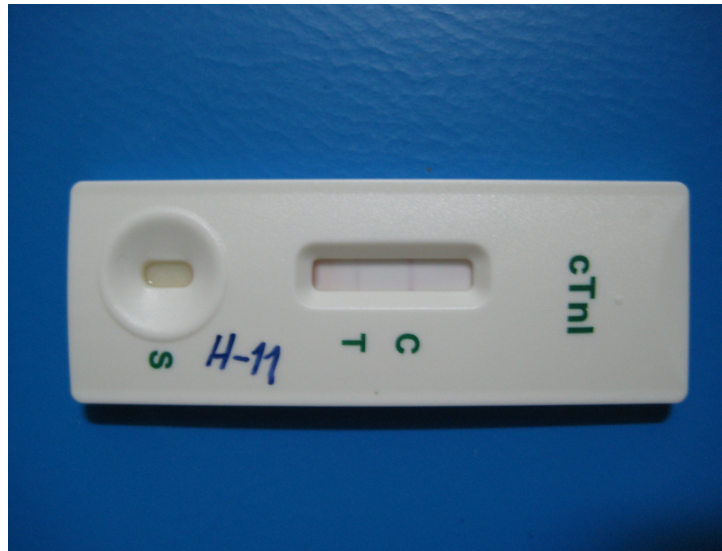
Şekil 4.3. Dilatekardiyomyopatili 4 yaşlı kangal ırkı bir köpeğin nekropsi bulgusu: siyah ok perikard boşluğunda sıvı birikimini göstermektedir. Klapte belirgin büyüme ve yuvarlaklaşma.



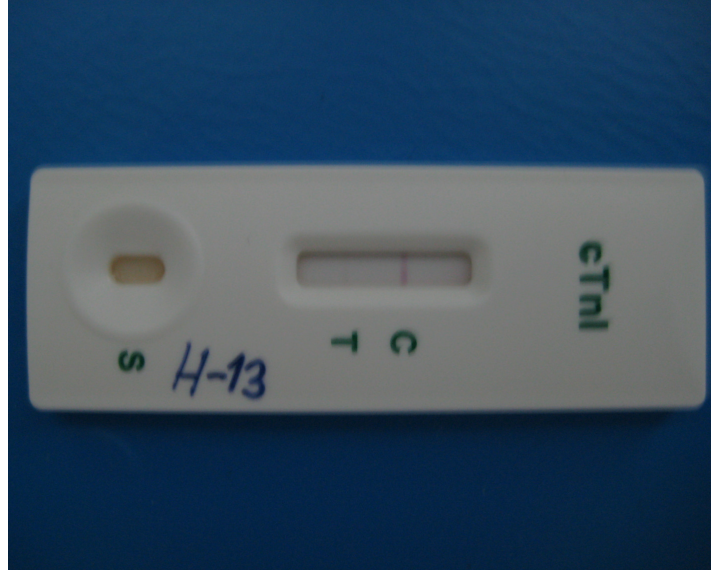
Şekil 4.4. Dilatekardiyomyopatili 4 yaşlı kangal ırkı köpekte cTn bulguları: Siyah ok belirsiz cTn pozitif, çok düşük düzeyde artışı ifade etmektedir (Üstteki resim), cTn I negatif (Altteki resim)



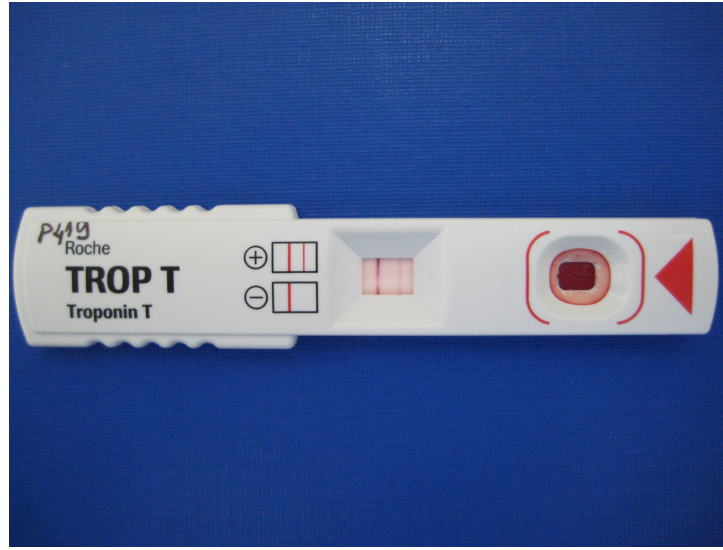
Şekil 4.5. Distemperli bir köpekten elde edilen pozitif cTn I bulgusu.



Şekil 4.6. Distemperli bir köpekten elde edilen pozitif cTn I bulgusu. Şekil 4.5 deki Test hattından (T) daha açık hat. Konsantrasyonun daha az olduğunun göstergesidir.



Şekil 4.7. Sindirim sistemi enfeksiyonu belirlenen bir köpekte belirsiz test hattı şüpheli bulgu.



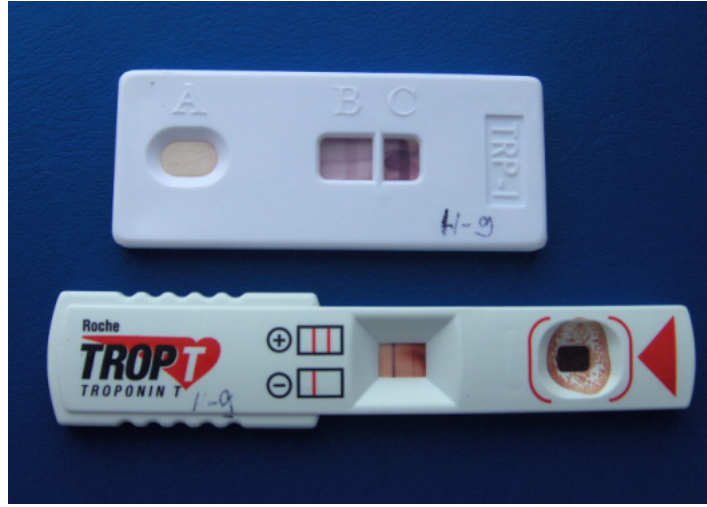
Şekil 4.8. Solunum güçlüğü ve yorulma belirtileri bulunan hafif DCM'li bir köpekte pozitif cTn T bulgusu



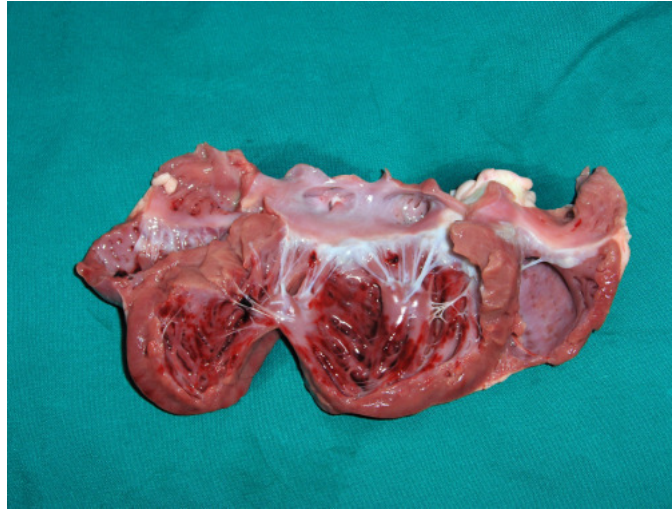
Şekil 4.9. Pnömotoraks ve asitesli bir köpeğe ait pratik kit sonuçları her ikisi de negatif (H 30)



Şekil 4.10. Rhinitis, Tracheitis, Bronchopneumoni bulunan ve Distemper belirlenen bir köpekte pozitif cTn I (Üste) ve negatif cTn T (Altta) (H 31)



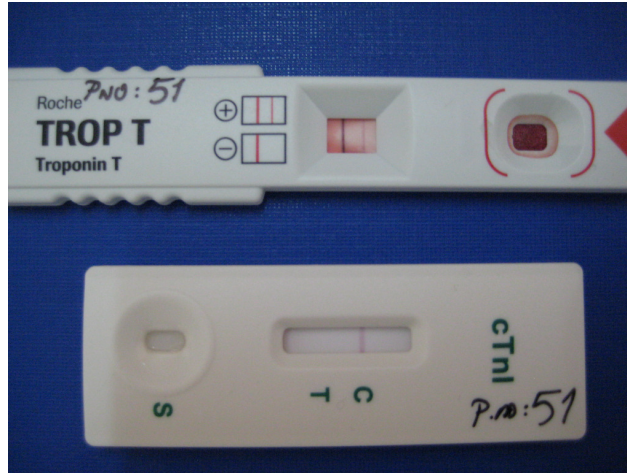
Şekil 4.11. CPV enfeksiyonlu köpeğe ait pratik kit fotoğrafları her ikisi de pozitif (H9)



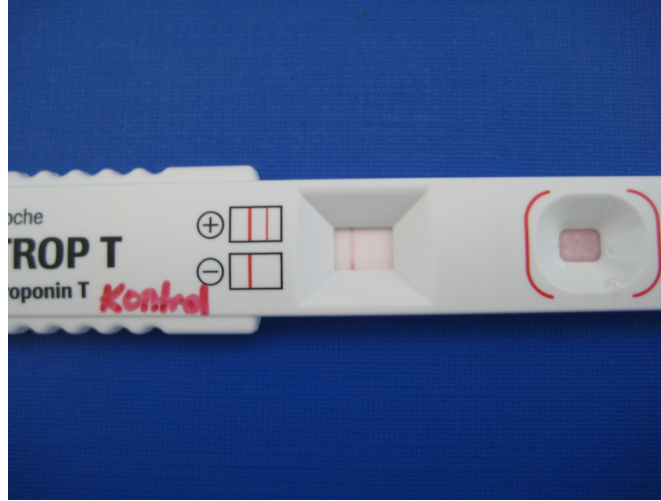
Şekil 4.12. CPV enfeksiyonlu köpeğe ait kalp nekropsi bulgusu, endokardda kanama (H9)



Şekil 4.13. CPV enfeksiyonlu köpeğe ait Sol ventrikul epikardda myokarditis (H9)



Şekil 4.14. Kalp yetmezliği ve Sağ kalpte büyüme belirlenen bir köpekte pozitif cTn T (Üstte) ve negatif cTn I (Altta). Bu köpekte CK ve Üre düzeyleri yüksek bulunmuştur (H 51)



Şekil 4.15. Bir kontrol grubu köpeğinden elde edilen negatif cTn T bulgusu.



Şekil 4.16. Bir kontrol grubu köpeğinden elde edilen negatif cTn I bulgusu.

Yaş faktörünün cTn düzeyleri üzerindeki etkisini belirlemek için farklı yaşlarda elde edilen cTn düzeyleri Tablo 4.9 da verilmiştir. Buna göre yaşlar arasında cTn düzeyleri bakımından farklılık belirlenmemiştir.

Tablo 4.9. Farklı yaş gruplarına ait ortalama cTn I ve cTn T konsantrasyonları

YAŞLAR	cTn-I ng/ml ($\bar{x} \pm SS$)	cTn-T ng/ml ($\bar{x} \pm SS$)
1-6 Ay, n=17	0,67 $\pm$ 0,18	0,01 $\pm$ 0,003
6-12 Ay, n=10	0,49 $\pm$ 0,42	0,01 $\pm$ 0,002
1-5 Yıl, n=21	0,54 $\pm$ 0,27	0,01 $\pm$ 0,003
5-10 Yıl, n=21	0,74 $\pm$ 0,46	0,01 $\pm$ 0,001

Tablo 4.10. Gruplara ait ortalama cTn-I ve cTn-T konsantrasyonları

GRUPLAR	Pratik kit sonucu	cTn I ng/ml x±SS	cTn T ng/ml x±SS
Grup I n= 10	Tn (+) n= 5	2,26±0,41 a	0,15±0,24
	Tn (-) n= 5	0,39±0,45 b	0,01±0,00
	Kontrol n=15	0,27±0,13 b	0,01±0,00
	P value	0,025	X
Grup II n= 18	Tn (+) n= 5	2,41±0,98 a	0,01±0,00
	Tn (-) n= 13	0,40±0,25 b	0,01±0,00
	Kontrol n=12	0,09±0,03 b	0,01±0,00
	P value	0,001	X
Grup III n= 20	Tn (+) n= 15	5,076±1,32 a	0,08±0,06
	Tn (-) n= 5	0,08±0,03 b	0,01±0,00
	Kontrol n=42	0,18±0,09 b	0,01±0,00
	P value	0,001	X

a, b, c: Her bir gruptaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı göstermektedir. X: İstatistik yapılmadı.

Her üç sisteme ait hastalıklar incelendiğinde vaka sayısındaki yetersizlikler her bir bozuklukta cTn düzeylerinin ayrı ayrı belirlenip istatistiksel analizlere tabi tutulması yerine

tüm sistemlerde cTn pozitif ve negatiflerin konsantrasyonlarının arasındaki farkın belirlenmesini gerekli kılmıştır. Pratik kit sonuçları ile konsantrasyonların uyumlu olup olmadığı, bulguların kontrol grubu verilerinden istatistiksel açıdan farklı olup olmadığı belirlenmiş ve Tablo 4.10 da gösterilmiştir. Bu proje kapsamında Troid hormon düzeyleri de analiz edilmiştir. Buna göre farklı yaşlardaki sağlıklı kontrol köpeklerinde elde edilen T4 ve T3 konsantrasyonları Tablo 4.11 de, hasta gruplarından elde edilen T4 ve T3 düzeyleri Tablo 4.12 de verilmiştir.

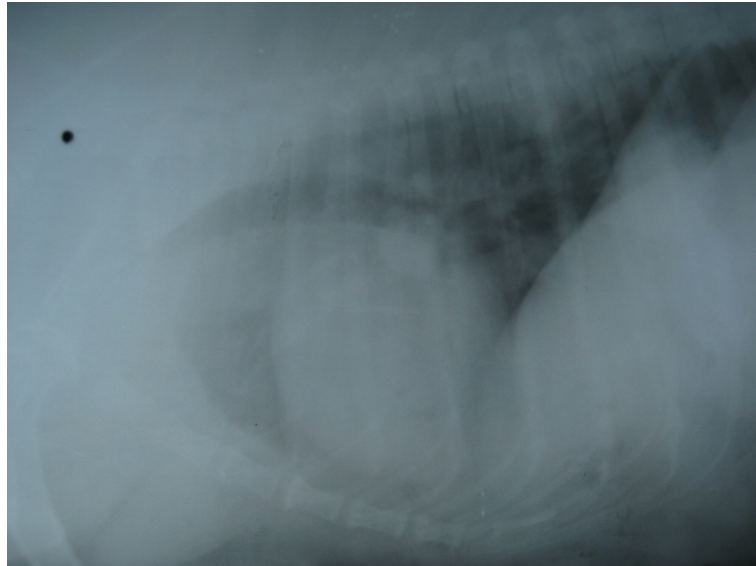
Tablo 4.11. Farklı yaş gruplarına ait ortalama T4 ve T3 konsantrasyonları

YAŞLAR	T4 ng/dl x±SS	T3 pg/ml X±SS
1-6 Ay, n=17	1,78±0,62	8,55±6,50
6-12 Ay, n=10	2,92±0,63	9,98±2,42
1-5 Yıl, n=21	2,82±0,43	6,38±2,61
5-10 Yıl, n=21	2,56±0,85	8,86±2,28

Tablo 4.12. Çalışma gruplarına ait ortalama T4 ve T3 konsantrasyonları

GRUPLAR	Pratik kit sonucu	T4 ng/dl X±SS	T3 pg/ml X±SS
Grup I n= 10	Tn (+) n= 5	1,65±0,76	6,06±3,12
	Tn (-) n= 5	1,92±1,29	6,80±4,19
	P value	0,67	0,79
Grup II n= 18	Tn (+) n= 5	0,15±0,015	5,26±2,13
	Tn (-) n= 13	1,89±1,20	4,49±3,07
	P value	0,012	0,84
Grup III n= 20	Tn (+) n= 15	3,13±1,13	3,17±2,03
	Tn (-) n= 5	1,81±0,91	5,84±4,61
	P value	0,04	0,06

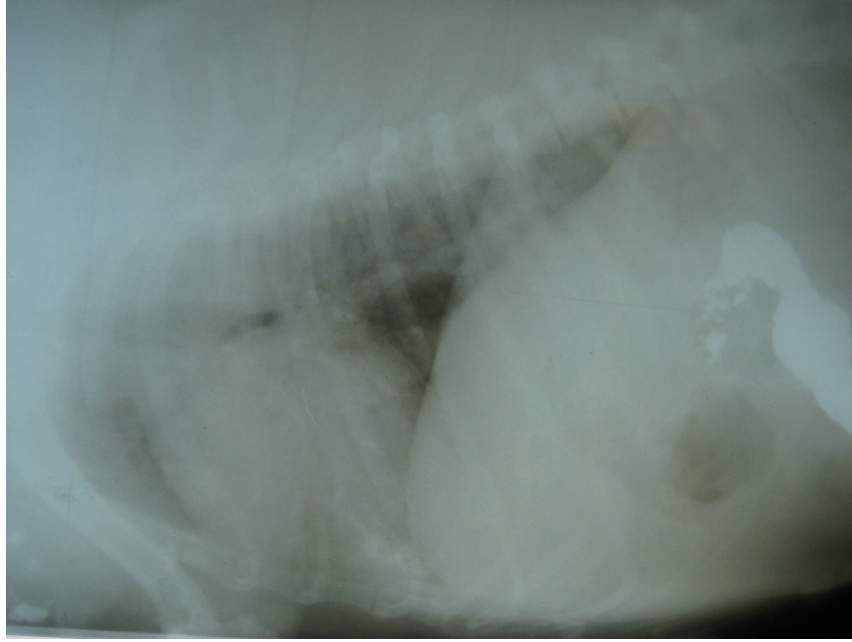
4.4. RADYOLOJİ BULGULARI



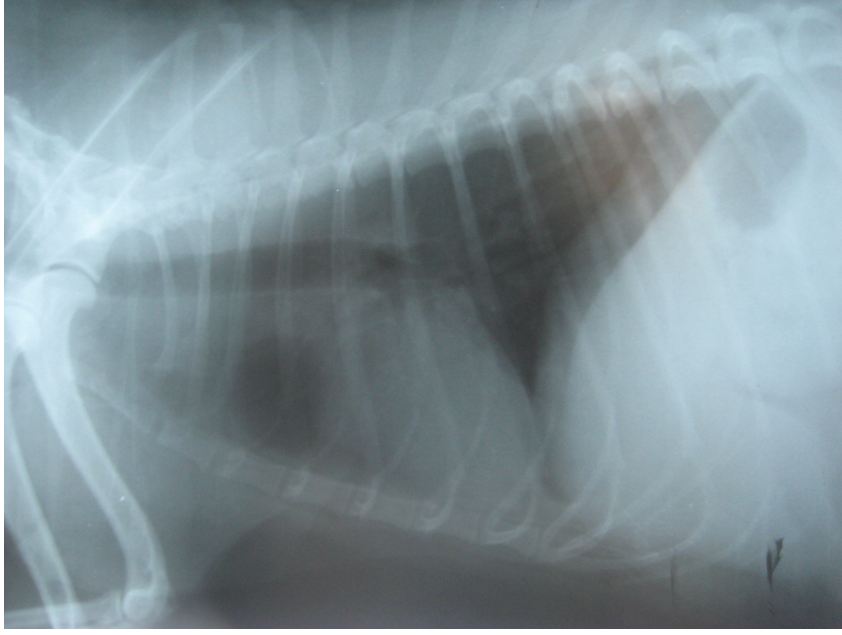
Şekil 4.17. Dilatekardiomyopatili bir köpeğin lateral radyografi. Kalbin sınırlarında yuvarlanma, kalp silüetinde generalize genişleme, trakeanın dorsale deviasyonu, posteröör sınırın dikleşmesi. Toraksta detay kaybı, pleural efüzyon.



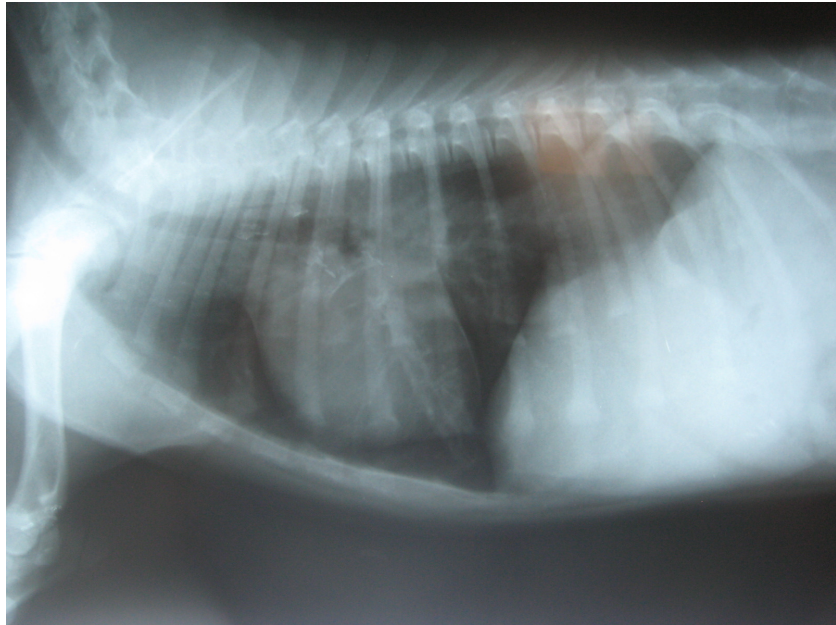
Şekil 4.18. Dilatekardiyomyopatili konjestif kalp yetmezliği bulunan Kangal ırkı bir köpeğin lateral radyografi. Pleural efüzyon, göğüs boşluğunda yaygın radyoopasite, detay kaybı.



Şekil 4.19. Ventriküler dilatasyon bulunan bir köpeğin lateral radyografi. Çift taraflı ventriküler hipertrofi; kalp göğüs boşluğunun 2/3 den daha fazla bir alanı kaplamaktadır. Bronkopnömoni tablosu.



Şekil 4.20. Sağ kalpte dilatasyon bulunan bir köpeğin Lateral radyografi.: Kalbin posterör yüzünde kese oluşumu. Pulmoner venöz konjesyon.



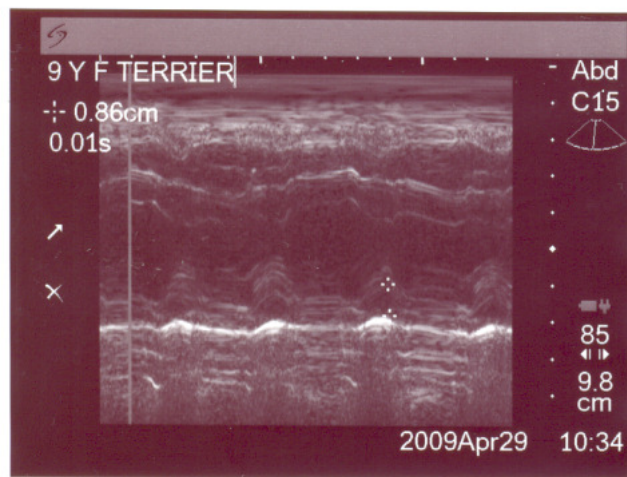


(B)

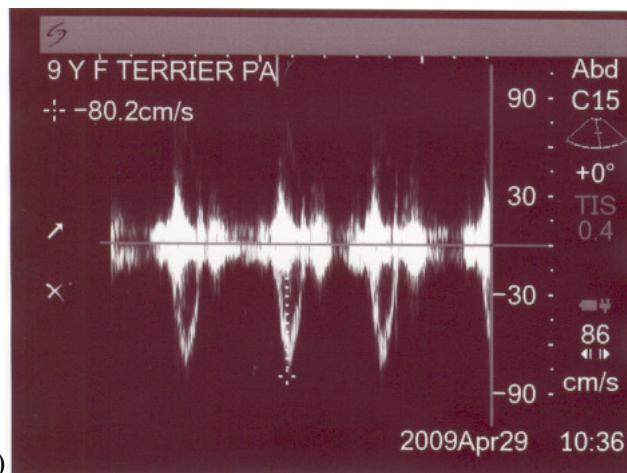
Şekil 4.21. Pnömotorakslı bir köpeğin lateral (A) ve ventrodorsal (B) görüntüleri. (A): kalbin ventral yüzünün sternal duvardan ayrılması, (B): kalbin göğüs boşluğu içinde asimetrik pozisyonu ve kollabe olmuş akciğer görülmektedir.

4.5.EKOKARDİYOGRAFI BULGULARI

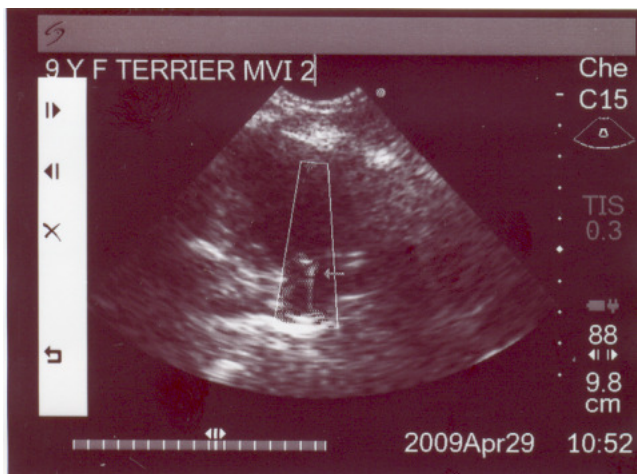
Projeye dâhil edilen köpeklerden elde edilen seçilmiş EKO örnekleri aşağıda verilmiştir. Buna göre kapak yetmezlikleri, kardiyak dilatasyon ve pleural efüzyon bulunan köpeklerden elde edilen EKO bulguları her vakaya ait resim grubunun altında açıklamalarıyla belirtilmiştir.



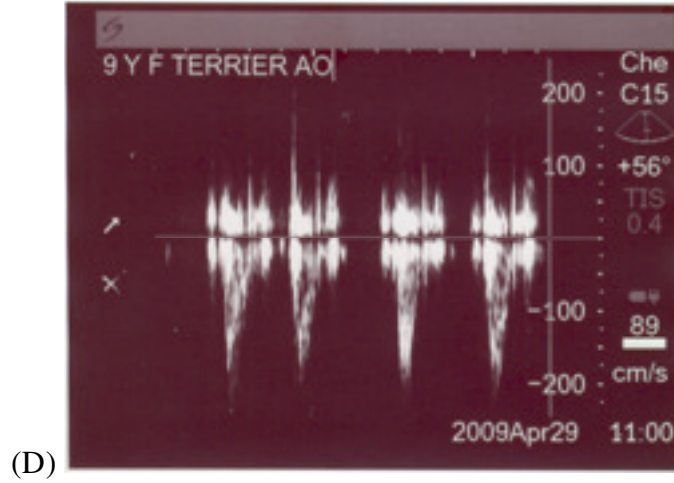
(A)



(B)

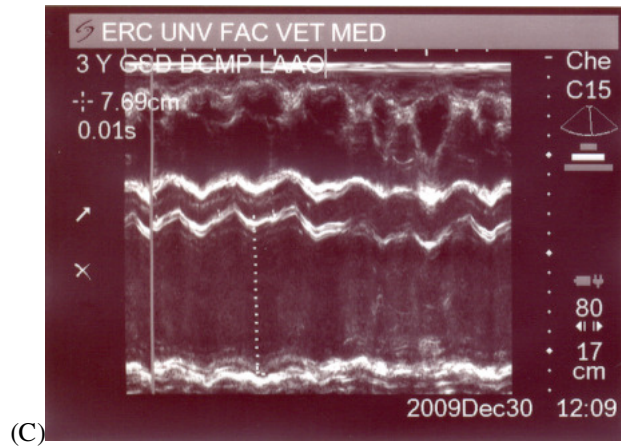


(C)

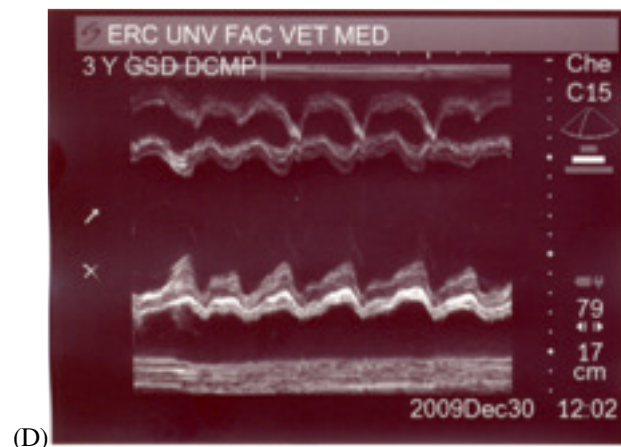


Şekil 4.22. (A) 9 Yaşlı cTn-I pozitif, cTn-T negatif belirlenen bir dişi Terierde M-mod ekokardiogram bulguları, sistol sonu sol ventrikül arka duvar kalınlığı 0,86 cm. (B) Aynı köpeğin, pulmoner kapak doppler trase bulguları (PW Doppler). (C) Aynı köpeğin, sol kısa eksen görüntüsünde 2. Derece mitral kapak yetmezliğinde (ok işareti) MW Doppler bulguları. (D) Aort kapağı düzeyinde bir miktar artmış akım örneği.

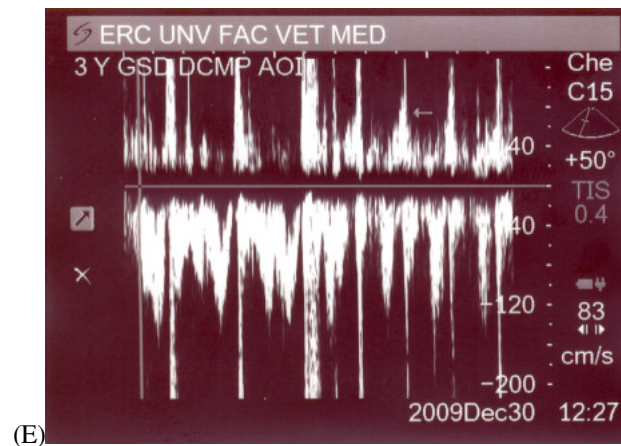




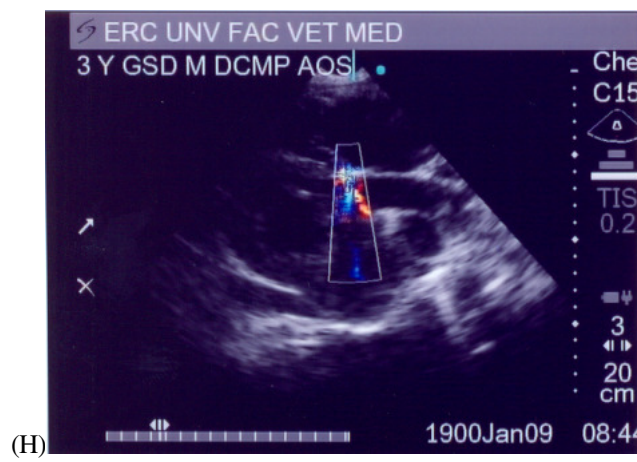
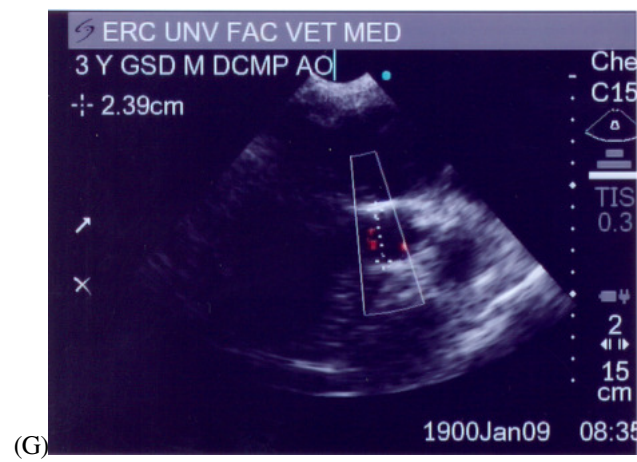
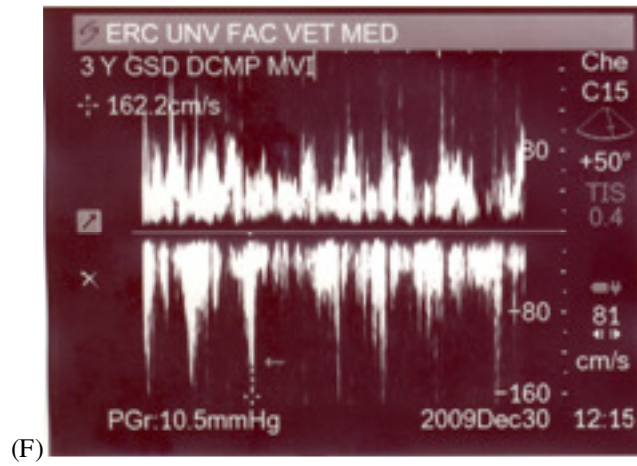
(C)

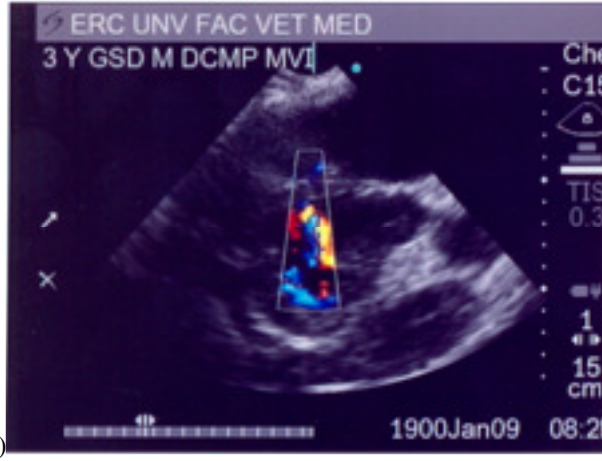


(D)



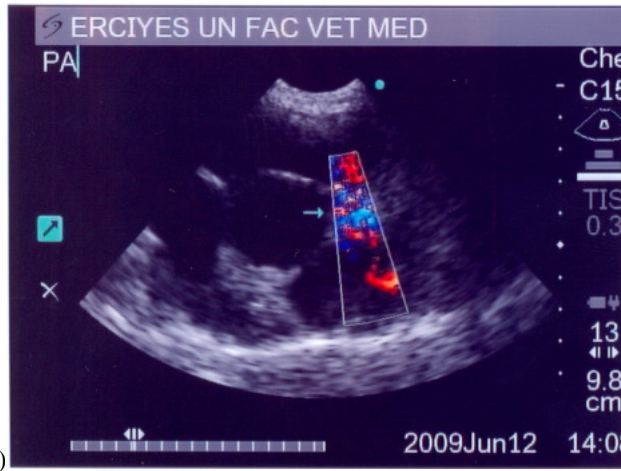
(E)



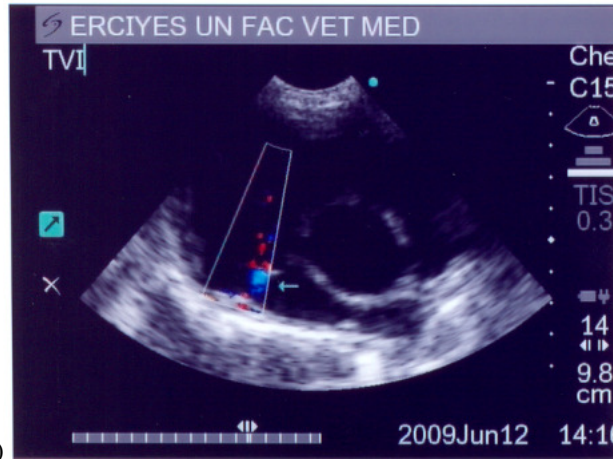


(I)

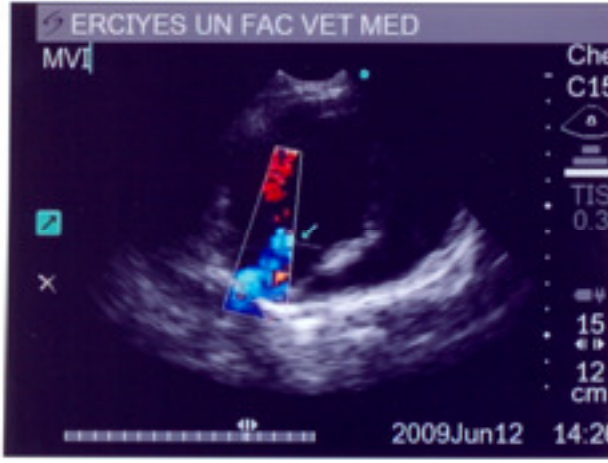
Şekil 4.23. (A,B) Dilatekardiomyopatili 3 yaşlı bir köpekte 2D ekokardiyografi bulguları, plöral efüzyon ve kalpte genişleme (C,D) M Mod Ekokardiyografi bulguları; genişlemiş sol ventrikül boşluğu izlenmektedir. (E,F) Aynı köpekte PW trase bulguları. (G,H,I) Renkli Doppler bulguları



(A)



(B)

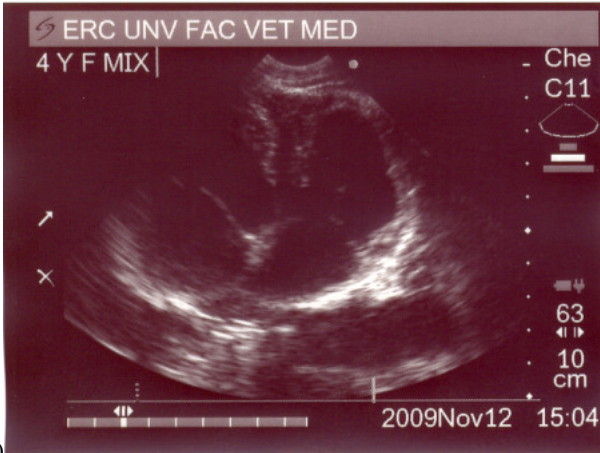


(C)

Şekil 4.24. 10 yaşlı erkek kangal köpeğinde atriyoventriküler ve pulmoner kapak yetmezliklerine ait renkli Doppler bulguları

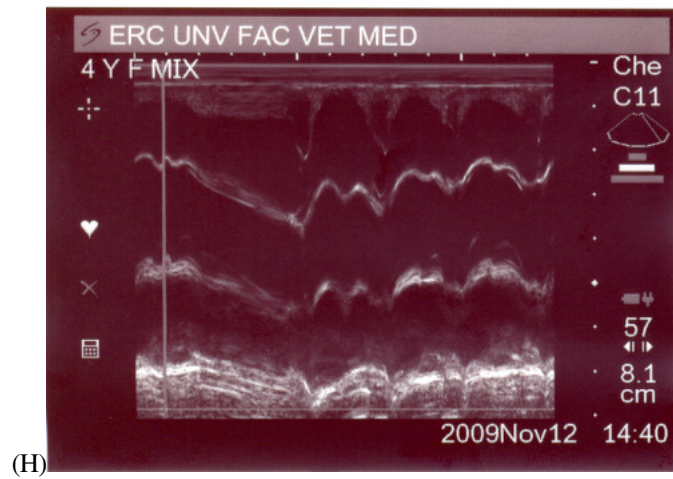
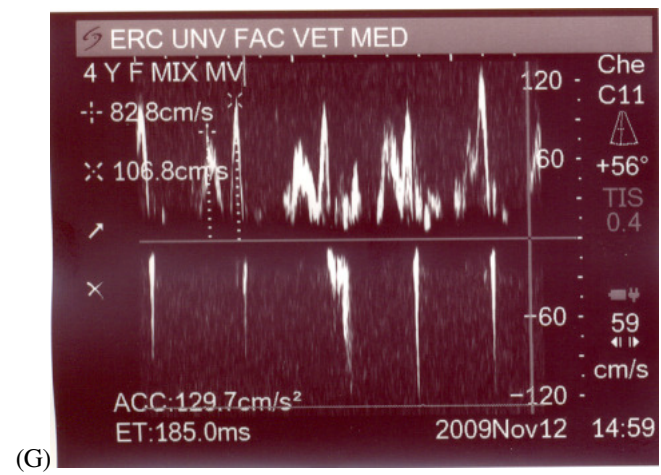
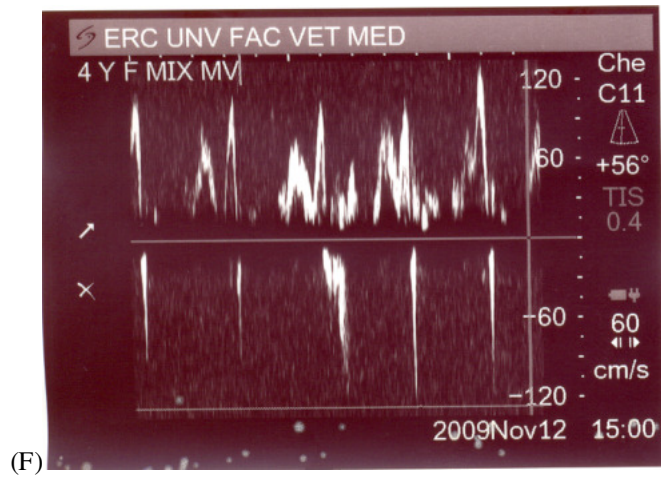


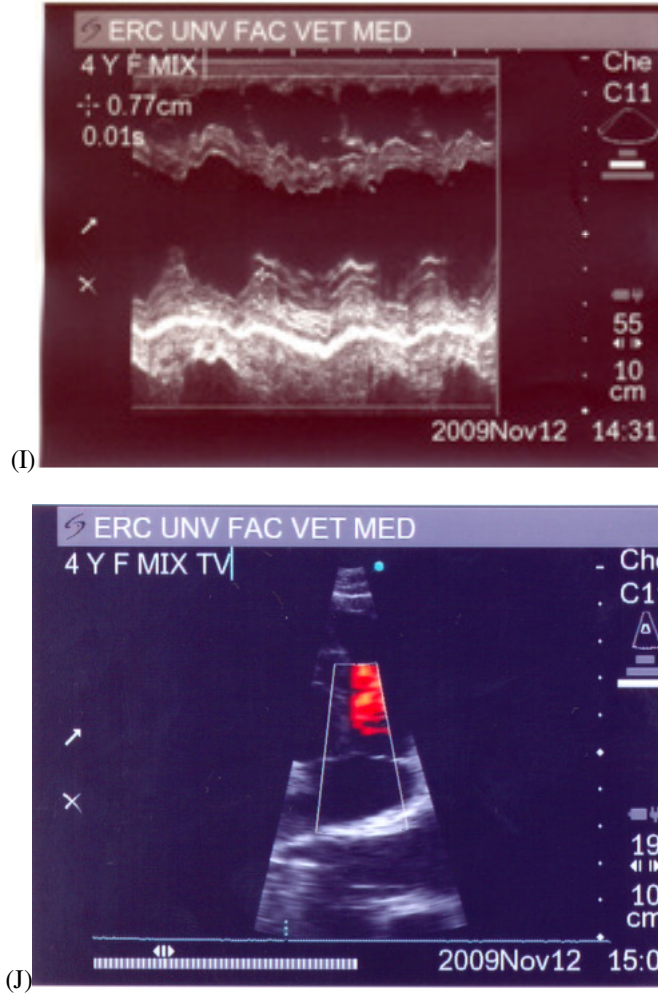
(A)



(B)



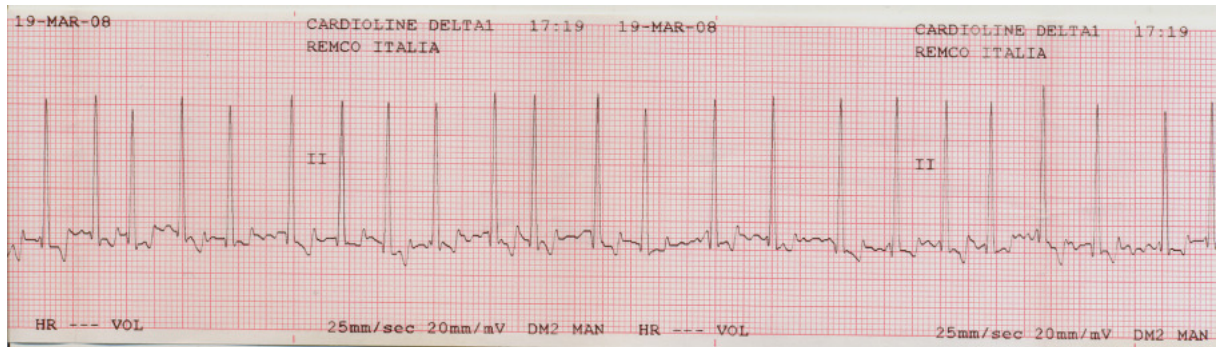




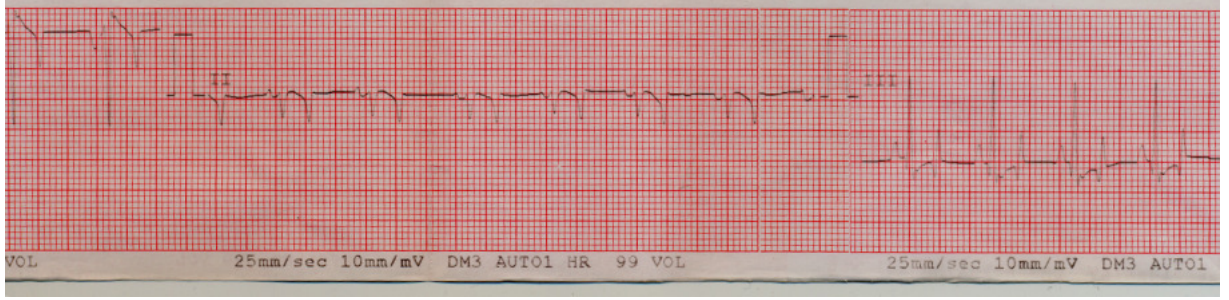
Şekil 4.25. (A,B, C, D, E) 4 yaşlı dişi bir köpekte Perikardiyal efüzyon ve mitral kapakta hiperekoinite bulguları. (F,G) Diyastolik yetmezliğe ait PW Doppler traseleri (H, I) LA/AO oranı ve sol ventrikül düzeyi M mod ekokardiyografi bulgusu. (J) Pulmoner kapak düzeyinde renkli akım bulgusu.

4.6. ELEKTROKARDİYOGRAFI BULGULARI

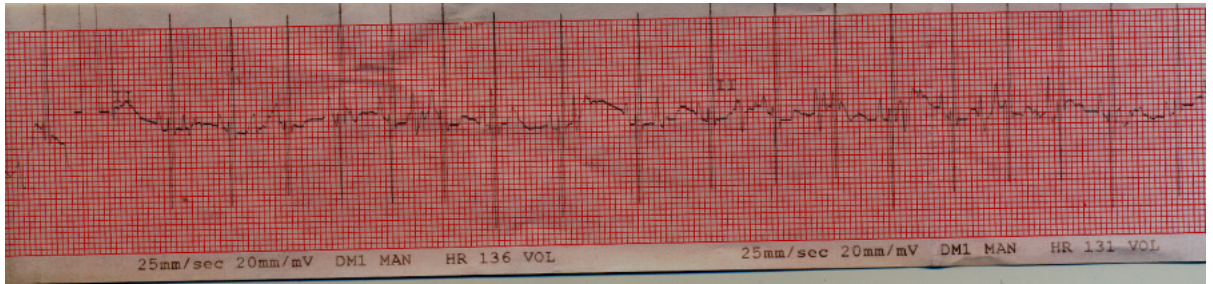
Kalp hastalığı bulunan gruplardaki köpeklerin seçilmiş elektrokardiyografi bulguları aşağıda belirtilmiştir.



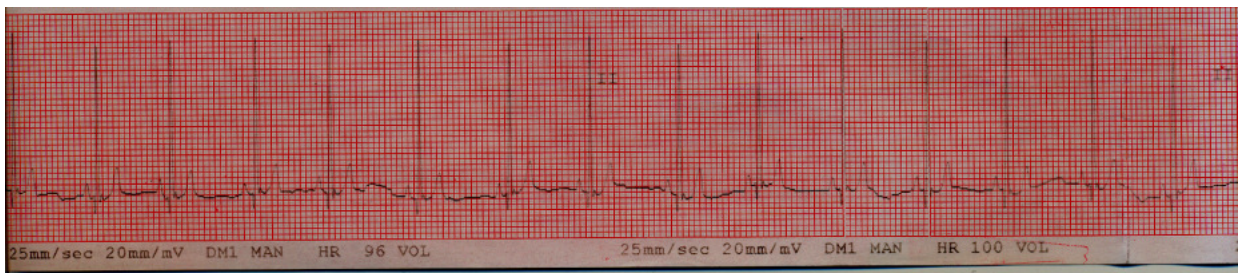
Şekil 4.26. EKG 1. Kalp yetmezliği hemoabdomen asites bulunan bir köpekte II derivasyon EKG bulgusu: Taşıaritmisi, R dalgasının boyunda uzama.



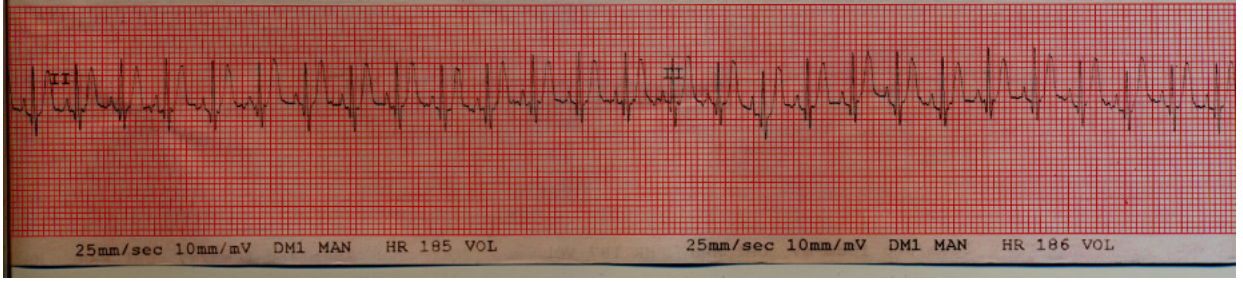
Şekil 4.27. EKG 2. Pleural efüzyon, sol kalpte büyüme ve cTn T negatif belirlenen bir köpekte II. derivasyon EKG bulgusu,



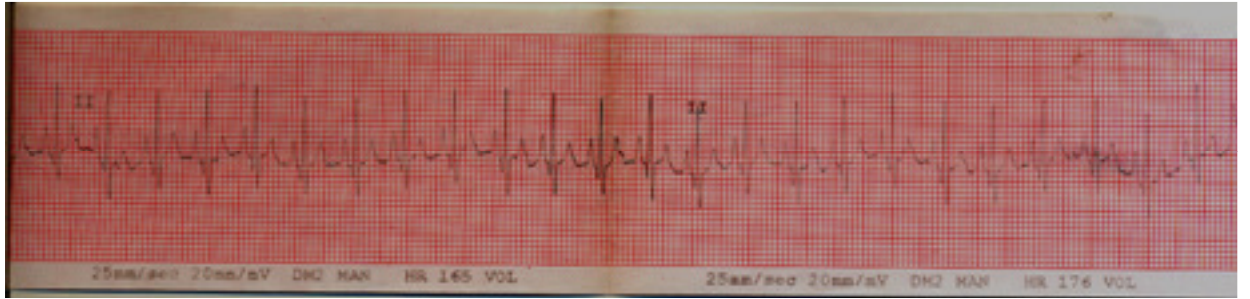
Şekil 4.28. EKG 3. Sağ atriyal büyüme, distemper. II. derivasyon EKG bulgusu, P dalgası amplitüdünde artma.



Şekil 4.29. EKG 4. Sağventriküler hipertrofi, R dalgasında uzama.



Şekil 4.30. EKG 5. Parvovirüslü enfeksiyonlu bir köpekte, myokard dejenerasyonu bulgusu; T dalgası amplitüdünde genişleme, uzama, taşikardi.



Şekil 4.31. EKG 6. Distemper belirlenen bir köpekte; T dalgası süresinde uzama ve taşikardi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu proje ile, köpeklerde kalp kasında şekillenebilecek dejenerasyonlarda serum cTn düzeylerinin araştırılması ve klinik pratikte uygulama kolaylığı olan cTn kitleri ile kalp kası hasarlarının belirlenmesi amaçlandı. Erken dönemlerde kalp kasında çok küçük düzeylerdeki dejenerasyonları belirleyebilen bu kitler ile kalp kası dejenerasyonu yönünden, risk altındaki köpekler belirlendi. Konjestif kalp yetmezliği oluşturan kardiyomyopatiler ile ülkemiz veteriner kliniklerinde yoğun olarak görülen distemper ve parvoviral enfeksiyonlarda ölüm nedeni olan myokard dejenerasyonlarının, bu çalışma ile hasta hayvanlar arasındaki oranları da ortaya konuldu. Bu projenin diğer bir amacı da, kardiyak ve nonkardiyak hastalıkların ayırımında söz konusu parametrelerin kullanılabilirliği ile kalp kası hasarını belirleyen cTn parametrelerinin kalp kası enzimlerine göre üstünlükleri ve klinik önemlerinin ortaya konulmasıydı. Proje ile kalp hastalıklı köpeklerde diğer biyokimyasal parametrelere göre cTn'lerin teşhiste daha etkili olduğu belirlenmiştir. Köpeklerin drofilariozis, troid bezi ve üriner sistem hastalıklarında da cTn düzeylerinin belirlenmesi de hedeflenmişti. Ancak proje süresi içerisinde bu vakalara kliniğimizde rastlanmadığı için projeye dahil edilmemişlerdir. Bununla birlikte drofilariozis yönünden şüphelenilen ve kalp hastalığı olan tüm köpeklere *Drofilaria* antijen testi uygulanmış fakat sonuçların tüm örneklerde negatif olduğu

belirlenmiştir. Bu proje ile cTn düzeyleri ile yaş faktörü arasındaki ilişkiler de araştırılmış, fakat cTn düzeyleri bakımından yaşlar arasında bir fark belirlenmemiştir.

Distemperli ve parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde, kaynaklarda bildirilen tipik klinik belirtiler gözlemlenmiştir. Distemperli köpeklerde klinik belirtiler; anoreksi; depresyon, ateş, üst solunum yolu enfeksiyonu, koyu, sarı-yeşil burun ve göz akıntısı ile gözde çapaklanma, öksürük; dispne, kusma ve ishal olarak belirlenmiştir. Hiperkeratozis ve sinirsel belirtiler ön planda değildi. İki köpekte, tik, tetraparezi, hiperestezi, myoklonus gibi sinirsel belirtiler görüldü (73, 74). Elde edilen klinik muayene bulguları, vücut ısısı artışı, taşikardi, taşipne ve diğer bulgular önceki bildirilerle uyumludur (19, 20, 22, 73).

Parvovirus enfeksiyonlu köpeklerde klinik belirtiler ise (Canin Parvovirus) CPV Tip 2 ye ait belirtilerdi. Kaynaklarda belirtildiği gibi; kanlı, kötü kokulu bir ishal, kusma, depresyon, anoreksi, dehidrasyon, ağırlık kaybı, abdominal ağrı belirlenmiştir (73, 74).

Kardiyak hastalıkların klinik değerlendirilmesi ve teşhisinde fiziksel muayeneler, elektrokardiyografi ve ekokardiyografi bulguları ile bazı serum biyokimyasal parametrelerin analizleri önemli bir yer tutar. Bu parametreler arasında özellikle kalp kası hastalıklarının teşhisinde, myoglobin, CK-MB, LDH ve AST aktivitelerindeki artışlardan sıklıkla yararlanılmaktadır (4). Miyokardial hasarlı hastaların değerlendirilmesi için kardiyak göstergelerin yalnız başına veya birlikte belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu göstergeler insan ve hayvanlardaki kardiyak hücre ölümünün veya nekrozisin en önemli belirleyicileridir. Miyokart hücrelerinden sızan yangı indikatörlerinden enzimlerin dışında en önemlisi Troponinlerdir. Troponin kompleksi bir grup proteinden meydana gelmiştir (troponin I, T ve C). Bunlar sarkomerde aktin ve miyozinin interaksiyonlarını düzenler. Kalp kası hücrelerindeki dejenerasyon sonucu bu enzimlerin dolaşımdaki miktarı artar. İnsanlardaki troponin (cTn-I ve cTn-T) düzeyinin tespiti için kullanılan kitlerin köpekler için de kullanılabileceği düşünülmüştür (75-77).

Bu projede kalp kası hasarının klasik ve konvansiyonel enzimatik göstergeleri olarak LDH, AST ve CK aktiviteleri analiz edilmiştir. Aspartat aminotransferaz tüm hayvanlarda yumuşak doku nekrozunun nonspesifik indikatörüdür. Karaciğer harabiyeti, iskelet kaslarının harabiyeti, kalp kası bozuklukları, aşırı egzersiz durumlarında aktivitesi artar. Bu

projede AST düzeylerinde anlamlı değişiklikler belirlenmemiştir. Laktat dehidrogenaz, tüm vücut dokularında bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Glikoliz sonunda oluşan pirüvatın anaerobik ortamda laktata dönüşümünü katalizler (1). Aktivitesi, akut kalp kası enfarktüsünden (AMI) sonra 24-48 saatte yükselmeye başlar, 3-6 günde pik yapar ve 8-14 günde normale döner. Kendisi veya izoenzimleri, CK aktiviteleri normale dönmüş hastalarda önemlidir. Hemoliz, megaloblastik anemi, lösemi, karaciğer hastalığı, hepatik konjesyon, renal hastalık, neoplazm, pulmoner embolizm gibi durumlarda da total LDH aktivitesi yüksek bulunur. Genellikle toplam LDH düzeyindeki 3-4 kat yükselmeler kalp kası hasarı ile ilişkilendirilir. Laktat dehidrogenaz düzeyi hemolizi belirlemek açısından da önemlidir. Karaciğer tahribatında da LDH aktivitesinde yükselmeler görülür, fakat bu yükselme aminotransferazlar kadar büyük değildir. Toksik hepatitte üst sınırın on katı kadar yükselebilir. LDH/AST oranı hemoliz veya diseritropoez kaynaklı prehepatik sarılığı hepatik sarılıktan ayırt etmede kullanılabilir. Kronik glomerülo nefrit, diyabetik nefroskleroz ve mesane ile böbrek malignitelerinde idrar LDH aktivitesinde üç ile altı kat artış görülür. Malign hastalıklarda da serum LDH aktivitesi artar (1, 78). Kreatin kinaz; iskelet kası, kalp kası, beyin, prostat ve uterusunda bulunan sitoplazmik ve mitokondriyal bir enzimdir. Transport sistemi ve kontraktile için gerekli olan ATP oluşum reaksiyonunu katalizler; aynı zamanda geriye dönüşümlü olarak, fosfat vericisi ATP'yi kullanarak kreatini fosfatlar (1, 78). Köpeklerde LDH ve CK aktivitelerinin normal aralık değerleri sırasıyla; 24,1-219,2 İÜ/L ve 13,7-119,7 İÜ/L dir (79). Ortalama LDH aktivitelerinin tüm gruplarda bu belirtilen değerlerin arasında veya altında belirlenmiştir. Bu enzim aktivitesinde herhangi bir artış şekillenmemiştir. Buna karşılık CK aktivitesi sadece dolaşım sistemi hastalıklarında ve paratik kit sonuçları pozitif köpeklerde ($500,02 \pm 125,14$ İÜ/L); hem aynı grubun kontrol verilerinden ($27,76 \pm 7,90$ İÜ/L) hem de diğer gruplardaki ortalamalardan istatistiksel açıdan yüksek bulunmuştur. Tüm türlerde CK aktivitesi iskelet ve kardiyak kaslarda en yüksektir. Aktif kardiyomyopati ve musküler myopatide serum CK aktivitesinde belirgin artışlar miyokard tahribatının boyutuna ve daha önceki miyokard tahribatı geçmişine bağlıdır. Pratik kit sonuçlarıyla uyumlu yüksek CK aktivitesi devam eden ve önemli ölçüde şekillenmiş kardiyomyopatinin bir göstergesidir.

Kalp hastalıkları normal kabul edilen değerlerin dışındaki herhangi bir kalp bulgusunun ortaya çıkması sonucunda tanımlanan durumlardır. Klinik olarak belirgin olabilen veya olamayan farklı etiyolojilerin etkisiyle çeşitli anatomik ve fizyolojik farklılıkları içerir ve çoğunlukla teşhisinde problemlerle karşılaşılır. Kardiyovasküler sistemin muayenesi için gerekli veri tabanı; hastalığın geçmişi, fiziksel muayene, tam kan sayımı, serum biyokimya analizleri, EKG, göğüs radyografları ve bazı vakalarda Ekokardiyografi kullanımlarını içerir (80). Bu projeye dahil edilen vakalardaki bir kalp hastalığı belirlenen köpeklerin yukarıda bahsedilen klinik ve laboratuvar bulgularında kaynaklarla uyumlu değişiklikler belirlenmiştir.

(20, 22, 73). Önceki literatürlerle uyumlu olarak proje kapsamı içerisinde kliniğe getirilen 20 adet köpekte dilate kardiyomyopatinin yüksek oranda olduğu belirlendi. Köpeklerde oldukça sık görülen bu tablonun görülme oranı kalp hastalıkları içerisinde % 35 di (81-87).

Dilate kardiyomyopati (DCM) sıklıkla genç, iri ırk, 4-6 yaşlı, erkek köpeklerde görülen bir bozukluktur (88). Klinik olarak dispne, öksürük, bayılma, egzersizi tolere edememe ve abdominal gerginlik ve kısmi anoreksi, ağırlık kaybı ile birlikte orta dereceli letarji görülmektedir (19, 20) Bu olgulardaki DCM'li köpeklerin aynı yaş ve benzer klinik semptomlara sahip olması yukarıdaki bildirimlerle benzerlik göstermektedir.

Birçok köpekte DCM radyografik açıdan kolay belirlenebilir. Genellikle belirgin sol taraflı veya generalize kardiyomegali ile birlikte sol atriyal büyüme belirgindir (19-22). Uyumlu olarak projedeki vakalarda da bu değişiklikler radyogramlarda izlenmiştir (Rad 1 ve 32). Doberman Pinscher ve Boxer gibi ırklarda kalp silüeti normal veya hafifçe genişlemiş olabilir. Pulmoner venöz konjesyon ve interstitiel veya alveolar ödem semptomatik hastalarda bulunmuştur (Rad 1, 3, 4). Konjestif kalp yetmezliği olanlarda literatürle paralel pleural efüzyon gözlenmiştir (Rad 2) (19-22).

Köpeklerde DCM vakalarının EKG bulgularında; genellikle geniş P dalgaları sol atrial büyümeyi gösterirgen, sol ve sağ ventrikül genişlemeleri için uzamış R dalgası belirgindir. Ayrıca iletim anormallikleri ve taşiaritmiler bulunabilir, atrial daralma nedeniyle atrial fibrilasyon bulunabilir (23, 88). Bu bulgular radyogramlarda (Rad 1, 2, 3, 4) belirlenmiştir. Ayrıca parvovirus ve distemperli köpeklerde myokard dejenerasyonunun delillerini de T dalgası değişiklikleri ile belirlemek mümkün olmuştur (Rad 5, 6).

Ekokardiyografi bulguları DCM li köpeklerde en iyi M-mod ile tanımlanır. Bu sayede odacık çapları ve myokard fonksiyonları belirlenir. Sol ventrikülün dilate ve hipokinetik olduğu, E noktası ile septum arasının arttığı, LVS'de (Sol ventrikül kısılma) azalma belirlenmektedir (19-23). Sol ventrikül ve sistol sonu çaplar azalmış myokard kontraktilitesi nedeniyle artmıştır. Sol ventrikül ve diyastol sonu çaplar da volüm yüklenmesinin bir sonucu olarak artar. Ventriküler büyüme ve sistolik yetmezlik nedeniyle sol ventrikül ejeksiyon öncesi zaman artarken, sol ventrikül ejeksiyon zamanı azalır (88). Bu projede de konjestif kalp yetmezliği belirtileri, perkardiyal efüzyon, mitral, triküspital yetmezliğe bağlı regürjitasyon bulguları, değişmiş odacık ebatları klasik bulgularla uyumlu olarak gözlenmiştir.

Köpeklerde dilate kardiyomyopatinin oluşumu veya gelişimi yapısal açıdan hücresel dejenerasyon, çoklu odağa sahip myokardial hücre ölümü ve fibrozisin ölen hücrelerin yerini alması ile karakterizedir. Bu nedenle DCM vakalarında da myokard hasarının göstergesi olan gerek enzimler (CK MB, AST, ALT, LDH) gerekse protein yapısındaki (Myoglobin, Troponin) belirleyicilerin kanda miktarlarının yükselmesi beklenir. Son çalışmalarda progressif myokardiyal yetmezlikli insanlarda patofizyoloji, klinik belirtiler, azalmış atım fraksiyonu ve prognoz ile ilişkilendirilen yüksek cTn düzeylerinin myofibrilolyze bağlı olduğu belirtilmiştir (55, 56). Kanda cTn-I ve cTn-T analizleri geç veya ilerme gösteren myokard hasarı ile yüksek riskli kardiyak hastaların ayırt edilmesinde kullanılabilmektedir. Köpeklerin DCM tablosunda devam eden myokard hücre hasarının biyokimyasal delilleri belirlenmiştir. (89). Köpeklerde cTn konsantrasyonlarının arttığı kalp hastalıkları; mitral kapak hastalıkları, dilate kardiyomyopati, subaortik stenozis, perkardiyal efüzyon, babesiozis, adriamisin enjeksiyonları, kardiyak kontüzyon şüphesi ve gastrik dilatasyon volvulustur (59, 90). Bu projede yukarıdaki çalışmalarda olduğu gibi cTn lerin konsantrasyonları belirlenmesine rağmen, bu projede köpeklerde bir ilk olarak insanlarda myokard hasarını belirlemek için kullanılan ticari test kitleri ile DCM ve şiddetli konjestif kalp yetmezliği belirtileri bulunan köpeklerin hem cTn-I hem de cTn-T testlerinin pozitif olduğu rapor edilmektedir. Bununla birlikte hafif dilate kardiyomyopati ile iki köpekte ise sadece 2. derece mitral kapak yetmezliği tanımlanırken, belirtilerin çok şiddetli olmadığı ve sadece cTn-I pozitif belirlenirken, cTn-T sonucunun negatif olduğu belirlendi.

Kardiyak cTn-I'nin hafif vakalarda dahi duyarlı bir gösterge olabileceği belirlenirken, cTn-T'nin ilerlemiş vakalarda pozitif sonuçlar oluşturacağına karar verildi.

Perikardial efüzyonlarda cTn konsantrasyonunun arttığı rapor edilmesine rağmen (60) bu çalışmada diyastolik kalp yetmezliği belirlenen ve perikardiyal efüzyonlu 3 vakada pratik kitlerin negatif olduğu belirlenmiştir. Vakaların hafif klinik semptomlar göstermesi nedeniyle vakaların başlangıç aşamasında olduğuna ve henüz myokardın etkilenmemiş olabileceğine karar verilmiştir. Pleural efüzyon oluşturan sol ventrikül dilatasyonlu iki vakada ise myokardiyopatinin göstergesi olarak sadece cTn-I pratik kitler ile pozitif belirlenmiştir. Konjestif kalp yetmezliği ve mitral kapak yetmezliği oluşturan sağ ventrikül yetmezliğinde de DCM, sol ventrikül yetmezliği ile uyumlu şekilde cTn I pozitif belirlenmiştir.

Sağlıklı (14, 57, 60, 61) ve konjenital kalp hastalıklı (58) köpeklerde kalp kası troponinlerinden özellikle cTn-I düzeyleri belirlenmiştir (90). Bu köpeklerde hayatta kalma sürelerinin uzamasının, düşük Troponin konsantrasyonları ile ilişkili olduğu belirlenirken, yüksek konsantrasyonlarda bu sürenin oldukça kısaldığı görülmüştür. Düşük konsantrasyonlar, belirgin aktif kardiyomyosit ölümünün olmadığına göstergesidir. Yıllara göre 1, 2 ve 3 yıl süresince kalp hastalıklı olup da hayatta kalan köpeklerdeki ortalama cTn I konsantrasyonlarının sırasıyla 0.18 ng/mL, 0.07 ng/mL and 0.05 ng/mL, olduğu belirlenmiştir. Bu projede de her üç gruptan elde edilen pozitif pratik cTn-I belirlenen köpeklerin hayatta kalma sürelerinin oldukça kısaldığı görülmüştür. Pratik cTn-I kit sonuçlarının yüksek cTn I konsantrasyonlarıyla örtüştüğü de belirlenmiştir.

Belirgin kardiyak hastalığa sahip olmayan köpeklerde de bazen cTn-I konsantrasyonlarının 0.21-0.26 ng/ml aralığında olabileceği de belirtilmiştir (90). Bu hayvanların kardiyak bir hastalığa predispoze olduğu rapor edilen ırklara ait köpekler (83, 84, 87, 91-93) olmakla birlikte kardiyak kökenli olmayan bazı hastalıkların da cTn-I konsantrasyonlarını arttırabileceği rapor edilmiştir (90, 94). Köpeklerde cTn-I konsantrasyonlarının >1.0 ng/mL üzerinde olması ve sürekli yüksek değerlerin belirlenmesinin kötü prognozun bir göstergesi olacağını rapor etmişlerdir. Bu projede elde edilen cTn-I konsantrasyonları da bu ifadeyi doğrular niteliktedir. Kontrol gruplarında 1 ng/ml altında seyreden cTn-I düzeyleri, tüm gruplarda 2 ng/ml'nin üzerinde belirlenmiştir. Her ne kadar bu projede tek bir örnek alınmasına ve tekrarlayan cTn-I analizleri yapılmamasına rağmen, hastaların yapılan

takiplerinde cTn-I pozitif belirlenen ve 2 ng/ml nin üzerinde konsantrasyona sahip köpeklerin kısa sürede ölüme sürüklendiği gözlenmiştir.

Proje kapsamında şiddetli solunum sistemi problemi ve dispne belirtisi olan bir hastada cTn-I ve solunum sistemi belirtilerinin öne çıktığı Distemperli 7 hastanın 4 tanesinde hem cTn-I hem de cTn-T pozitif belirlenmiştir. Bu pozitif belirlenen vakalardaki cTn I konsantrasyonları da yüksek bulunmuştur. Fakat bu vakaların dışındaki, kardiyak olmayan sistemik hastalıklarda ne pozitif cTn ne de yüksek cTn konsantrasyonları belirlenmiştir. Yukarıdaki vakaların sonuçları ise viral veya bakteriyel etkenlerin belli düzeyde de olsa bir myokarditis yapabileceği yönünde yorumlanmıştır. Yapılan bir çalışmada deneysel olarak distemper virüsü ile enfekte edilen neonatal gnotobiyotik köpeklerde ölümcül kardiyak nekrozis makroskobik ve mikroskobik olarak belirlenmiştir. Bu lezyonlar akut multifokal ventriküler myokardial dejenerasyon, nekrozis, mineralizasyon ve fibrozisli yangısal hücrelerden oluşan bir tablo olarak tanımlanmıştır (95). Dolayısıyla Distemperde klasik sinir sistemi ve solunum sistemi klinik belirtilerinin dışında myokard dejenerasyonu da göz ardı edilmemelidir. Bununla birlikte deneysel çalışma yeni doğmuş yavru köpekler üzerinde yapıldığı için virusun oluşturduğu myokard dejenerasyonu yaşa bağlı bir etki olabilir. Bu projede konvülsiyon ve koma tablosu halinde getirilen 2 aylık bir kangal yavrusunda ve 1 yaşındaki distemper teşhis edilen bir husky’de cTn-I ve T pozitif belirlendi. Diğer Distemperli pozitif vakalar ise 6 ve 7 aylık idi. Yavru kangalın yapılan nekropsisinde endokarda yaygın kanamaların olduğu belirlendi (Şekil 4.12). Dilatekardiyomyopati ile ölen bir köpeğin nekropsisi bulgularında ise kalpte büyüme, perikardiyal ve pleural sıvı birikimi belirlendi (Şekil 4.2). Diğer vakalara ise örnek toplama işleminden sonra ulaşılamadığı için nekropsileri yapılamadı. Bununla birlikte daha önceki rapor edilen deneysel çalışma sonuçları ve bu projeden elde edilen pratik cTn sonuçları dikkate alınacak olursa; doğal distemper vakalarında da 2 aydan 1 yaşına kadar kalp kası hasarının olabileceği ve bu durumun cTn analizleriyle belirlenebileceği kanısına varılabilir (95). Kalp parametrelerinin ve özellikle de cTn-I kardiyak hastalıkların belirlenmesinde, kardiyak ve nonkardiyak klinik belirtilerin ayırt edilmesinde kullanılabilir. Özellikle köpeklerde dispne ile seyreden solunum yolu hastalıklarının, bazı kalp hastalıkları (konjestif kalp yetmezliği, aritmiler gibi) ile karıştırılabileceği unutulmamalıdır. Son yıllarda cTn I’nın kardiyak ve nonkardiyak

dispnenin nedenlerinin ayırımında kullanılabilirliği üzerinde durulmaktadır (96). İnsanlarda şiddetli renal yetmezlik, diyabet, kritik hastalık tablolarında da cTn-I'nın yükselebileceği belirtilmiş olmasına rağmen bu durumun gerçek mekanizması henüz tam olarak açıklanamamaktadır (97-102). Komplike olmamış solunum sistemi problemlerinde cTn'lerin kardiyomyopatiler ile solunum sistemi hastalıklarının ayırımında kullanılmasının teşhis açısından önemli olması beklenebilir. Yapılan birkaç çalışmada renal yetmezlikte cTn-I'nın artabileceği belirtilmektedir. Fakat bu çalışmada böbrek yetmezlikli köpek belirlenememiştir (95, 103). Fakat kontrollü ve histopatolojik bulgularında yer alacağı bundan sonraki çalışmalarda; böbrek yetmezliği, solunum sistemi hastalıkları gibi nonkardiyojenik problemlerde teşhis ve prognoz açısından cTn'ler belirlenmelidir.

Bu projeye dâhil edilen toplam 18 sindirim sistemi probleminin, 16 tanesi parvovirüs enfeksiyonu olarak tespit edilirken, diğerlerinde parvovirus saptanamadı. Yapılan parazit muayenelerde de herhangi bir erişkin parazit veya yumurtası belirlenemedi. Bu vakalarda mikrobiyolojik analizler yapılmamıştır. Parvovirus enfeksiyonu belirlenen grubun 5 tanesinde ise cTn testlerinin pozitif olduğu ve bu köpeklerin cTn konsantrasyonlarının yükseldiği belirlenmiştir.

Üç ile 8 haftalık yavru köpeklerde gelişen doğal akut parvoviral myokarditisler ani veya kısa bir dispne periyodunu takiben gelişen ölümlerle karakterizedir. Mortalite oranları % 20-100 aralığında değişebilir. İlk lezyon myokardiyumda gelişen solgun leke ve bantlar tarzındadır. Hafif veya şiddetli peribronşial ve perivasküler pulmoner ödem bulunur. Fibroblastlar nedeniyle pulmoner alveoler septumda kalınlaşma belirlenir. Akciğer lezyonlarının myokardial disfonksiyona bağlı sekonder olarak geliştiği kabul edilir. Myokardial fibrozis gelişen akut hastalıktan hayatta kalan yavruların bazılarıda konjestif kalp yetmezliği nedeniyle ölürlür (104). Doğal veya spontan parvovirus enfeksiyonları akut, subakut ve kronik myokarditislere yol açabilir. Akut vakalarda myositler içerisinde intranükleer inklüzyon cisimciklerinin bulunmasıyla myositolizis, subakutta yangısal reaksiyon ve myositolizis, kronikte ise fibrosiz ve myositolizise bağlı myokarditis oluşur (105). Bu nedenle söz konusu vakalarda kalp kası hücre dejenerasyonu sonucu cTn ler dolaşıma bırakılır ve serum konsantrasyonlarında artışlar şekillenebilir.

Antijenik kitlerle teşhis edilen distemper ve parvoviral enfeksiyonlu köpeklerin geçmişlerinde aşılmasının yapılmadığının rapor edilmesi bu hastalığın gelişmesinde önemli rol oynamıştır. Aynı zamanda genç yaş faktörünün bu hayvanlarda viral etkenlere bağlı myokarditis gelişmesi ile ilişkisi söz konusu olabilir. Her iki viral enfeksiyonun genç yaşta özellikle aşısız yavrularda myokarditise yol açabileceği, myokarddaki dejenerasyonların ise ölümden önce pratik kardiyak kitlerle belirlenebileceği ortaya konulmuştur. Ancak sadece cTn I için kitlerin pozitiviteleri de gruplardaki yüksek cTn-I konsantrasyonları ile doğrulanabilmiştir.

Özellikle kardiyak nekrozisin delilleri arasında son yıllarda cTn-I ve cTn-T analizleri başarıyla gerçekleştirilmiştir. Hayvanlardaki çalışmalar özellikle insanlardaki miyokardial enfarktüslerin belirlenmesi için laboratuvar hayvanları kullanılarak planlanmıştır (3, 5, 6). Memeli hayvanların miyokardiyumu cTn-I immunoassayı için yüksek oranda reaktiviteye sahiptir ve bu reaktivite miyokardium için yüksek oranda seçicidir. İskelet kasındakinden 1000 kat daha yüksektir. Aminoasit dizilişi açısından insan ve hayvanlardaki troponin proteinleri arasında yapısal benzerlikler vardır. Ayrıca hayvanlar arasında da aminoasit dizilişleri de benzerdir. Kalp yetmezliği bulunan köpeklerle sağlıklı kontrol köpekleri karşılaştırıldığında hasta köpeklerde kardiyak reaktivitede %32'lik bir azalma olduğu tespit edilmiş ve tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmanın mükemmel bir göstergesi olarak cTn-I bildirilmiştir. O'Brien ve ark. (8) insan cTn-I'ni belirlemek amacıyla yeni bir immunoassay metoduyla çeşitli türlerdeki cTn-I'nın doku reaktivitelerini karşılaştırmışlardır. Onların verileri, cTn-I'nın tüm memeli türlerinde kardiyak yaralanmalarının mükemmel bir aday biyogöstergesi olduğunu göstermiştir (8). Daha sonraları veteriner sahada yapılan çalışmalarla kalp kökenli troponinler daha iyi tanınmış ve günümüzde özellikle evcil küçük hayvan kliniklerinde rutin kullanım alanı bulmuştur (7). Yapılan çalışmalar daha teşhiste kullanımına yoğunlaşırken, prognoza yönelik çalışmalara halen ihtiyaç vardır.

İnsan ve köpek cTn I, nükleotid ve aminoasit sekansı arasında yüksek bir homolojiye sahiptir. Bu durum köpeklerde cTn I düzeylerini ölçmek için insan ticari analiz sistemlerinin kullanılmasına müsaade eder (65). Bu projede de insanlar için üretilen kit ve

sistemlerle gerek cTn I gerekse cTn T düzeyleri belirlenmiştir. Sağlıklı köpeklerde plazma cTn-I düzeyleri 0,03 ng/ml ile 0,07 ng/ml arasında (ortalama 0,02 ng/ml) belirlenmiştir. Kedilerde ise 0,03 ng/ml ile 0,16 ng/ml arasında (ortalama 0,04 ng/ml) bir düzeyde olduğu bildirilmiştir (9). Bu projede kullanılan 1-6 ay, 6-12 ay ve 1-5 yaşlı köpeklerde ortalama cTn-I konsantrasyonları sırasıyla $1,08 \pm 0,08$ ng/ml, $1,07 \pm 0,13$ ng/ml ve $0,74 \pm 0,46$ ng/ml dir. Yaşlar arasında herhangi bir fark belirlenmemiştir. Yaklaşık 1 ng/ml ve altındaki değerler sağlıklı köpekler için normal kabul edilebilir. Önceki çalışmalardaki verilerden yüksek bulunan değerler, analiz yöntemindeki farklılıklar ve farklı hayvanların kullanılmasından kaynaklanabilir. Fakat bu projenin bulguları Fonfara ve ark'nın (90) belirgin kardiyak hastalığa sahip olmayan köpeklerdeki cTn I konsantrasyonlarına (0,21-0,26 ng/ml) daha yakın bulunmuştur. Kalp hastalıklı köpeklerde, üç farklı analizör ile cTn I konsantrasyonlarının belirlendiği bir çalışmada bu değerlerin birbirine oldukça yakın olduğu, fakat birinin diğeriyle doğrudan karşılaştırılamayacağı bildirilmiştir (46). Yukarıdaki çalışmada Biosite analizörü ile cTn-I düzeyleri $<0,05$ -5,72 ng/ml belirlenmiştir. Bu projedeki hasta gruplarındaki düzeyler önceki çalışmayla uyumlu bulunmuştur.

Fredericks ve ark. (9) köpek, maymun, domuz ve ratlardan topladıkları kalp ve iskelet kas örneklerinde kardiyak troponinleri ve CK izoenzimlerini analiz etmişlerdir. Bu proje ile birlikte kalp hastası köpeklerde kalp kası hasarını gösteren özellikle CK aktivitesindeki artışa paralel cTn-I düzeylerindeki yükselmeler ve buna paralel olarak cTn-I sonuçlarının pozitif olması özellikle bu parametrenin köpeklerdeki kalp kası hasarı için çok yüksek oranda spesifik bir belirleyici olduğunun göstergesidir. Bu proje ile cTn-I'nın önemli bir diyagnostik gösterge olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç cTn-I önemli bir serolojik ve yüksek oranda spesifik bir belirleyici olduğunu belirleyen çalışma ile de paraleldir (45).

Bu projede Electrochemiluminescence immunoassay tekniği kullanılarak cTn T nin kantitatif tayinleri yapılmıştır. Cihazın analiz aralığı 0,010-25 ng/ml dir. Distemperli köpeklerin cTn T düzeyleri pratik kit ile pozitif belirlenenlerde $0,15 \pm 0,24$ ng/ml, kalp hastalığı grubu için $0,08 \pm 0,06$ ng/ml belirlenmiştir. Buna rağmen parvoviral enfeksiyonlu köpeklerde ve tüm cTn negatif belirlenenlerde, cTn T düzeyleri cihazın alt okuma limitinden aşağıda olduğu için $0,01 \pm 0,00$ olarak belirlenmiştir. Bu parametrenin düzeyindeki

değişimler aynı zamanda pratik cTnT sonuçlarıyla da uyumlu bulunmamıştır. Bu durumun yorumlanabilmesi için, farklı analiz yöntemleri ve farklı kitlerle cTn T düzeylerinin hem parvoviral myokarditisli hem de distemperli köpeklerde belirlenmesi gereklidir. Ayrıca bu proje ile köpeklerin viral myokarditislerinde kalp kası hasarları için çok spesifik bir belirleyici olan cTn-I testinin önemi ortaya konulmuştur. Bu çalışmada elde edilen cTn-I ile CK ve LDH düzeyleri karşılaştırıldığında bu parametrelerin paralel seyretmediği görülmüştür. Çünkü cTn-I konsantrasyonları, cTn-I pozitif vakalarda negatiflere oranla önemli oranda yüksek olmasına rağmen, enzimler arasında bir fark belirlenmemiştir (Tablo 4.6). Kanda Troponin-I ilk salınmasından birkaç gün sonra ikinci bir pik de yapar. İkinci pik dejenere olmuş miyofibrillere bağlı troponinlerin serbest bırakılması ile oluşur. Troponin-I akut miyokard enfarktüsünden sonraki 8. güne kadar yüksek olarak kalması nedeniyle daha sonraki enfarktüslerin veya kardiyak ölümlerin bir göstergesi olabileceği rapor edilmiştir. Fakat CK için bu durum söz konusu değildir, bu enzimin yarılanma zamanı oldukça sınırlıdır (33). Bu projedeki vakaların hastalığa tutulma dönemleri ve oranları farklılıklar gösterebileceği için enzim aktivitelerinde de değişiklikler beklenebilir (9). Özellikle CK enzim aktivitesi ilerleme göstermeyen kalp kası hasarlarında başlangıçtan itibaren 6–12 saatte maksimum yüksekliğe çıkar ve 24–48 saat içinde normal düzeyine iner. LDH aktivitesi de serum CK aktivitesine paralel seyrederek 48–72 saatte pik yapar. Daha kısa yarılanma zamanları söz konusu parametrelerin troponinlere göre önemli dezavantajı sayılabilir. Ayrıca enzim analizlerinin yapılabilmesi için laboratuvar şartlarına ihtiyaç vardır. Numune alımını takiben 15 dakika sonra pratik kitlerle cTn varlığı kanda belirlenebilir. Görülmüştür ki insanlar için üretilen cTn kitleri ile şap hastalığında kalp kası hasarları laboratuvar ortamına gerek kalmadan güvenli bir biçimde belirlenebilmektedir. Köpeklerde antijenik kitlerle Distemper ve parvoviral enfeksiyonlar belirlendikten sonra kalp kasının etkilenip etkilenmediği ve prognozun belirlenmesi için bu hastalıklarda cTn I ve cTn T pratik kitleri güvenle kullanılabilir. Kalp hastalıklı köpeklerde ise EKG ve EKO gibi konvansiyonel metodlarla hastalık belirlendikten sonra kardiyomyopatilerin ortaya konulması ve prognozun değerlendirilmesi amacıyla da yine aynı kitler kullanılabilir.

Bu çalışmada elde edilen pratik cTn kit sonuçları aynı zamanda fiziksel muayene, elektrokardiyografi, ekokardiyografi ve biyokimyasal bulguların etkinliğini arttırmıştır. Sonuçta cTn analizleri (cTn-T and cTn-I) köpekler için de sensitif ve spesifik bir belirleyicidir. Gelişmiş ve gelişmekte olan kalp kası bozukluklarının tahmin edilmesinde gerek cTn-I konsantrasyonları gerekse pratik kardiyak kitlerden veteriner sahada teşhis ve prognozun belirlenmesi amacıyla yararlanılabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Kaneko JK. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. (5th ed.) Academic Press, San Diego, 1997; pp: 413.
2. M-Bardorff M, Hallermayer K, Schro A, Ebert C. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. Clin Chem 1999;43:3, 458–466.
3. Boccara G, Pouzeratte Y, Troncin R, Bonardet A, Boularan AM, Colson P, Mann C. The risk of cardiac injury during laparoscopic fundoplication. Cardiac troponin I and ECG study. Acta Anaesthesiol Scand 2000; 44:398-402.
4. Jurlander B, Clemensen P, Wagner GS, Grande P. Very early diagnosis and risk stratification of patients admitted with suspected acute myocardial infarction by the combined evaluation of a single serum value of cardiac troponin-T, myoglobin, and creatine kinase MB. Eur Heart J 2000; 21:382-389.

5. Panteghini M. Present issues in the determination of troponins and other markers of cardiac damage. *Clin Biochem* 2000; 33:161-166.
6. O'Brien PJ, Dameron GW, Beck ML, Kang YJ, Erickson BK, Di Battista TH, Miller KH, Jackson KH, Mittelstad S. Cardiac troponin T is a sensitive specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim Sci* 1997a; 47(5): 486-495.
7. O'Brien PJ, Dameron GW, Beck ML. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in two generations of cardiac troponin-T immunoassays. *Res Vet Sci* 1998; 65:135-137.
8. Charles CJ, Elliott JM, Nicholls MG, Rademaker MT, Richards M. Myocardial infarction with and without reperfusion in sheep: early cardiac and neurohumoral changes, *Clin Sci*, 2000; 98:703-711.
9. Fredericks S, Merton GK, Lerena MJ, Heining P, Carter ND, Holt DW. Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. *Clinica Chimica Acta* 2001; 304:65-74.
10. Sabry MA, Dhoot GK. Identification and pattern of transitions of some developmental and adult isoforms of fast troponin T in some human and rat skeletal muscles. *J Muscle Res Cell Motil* 1991;12(5):447-54.
11. Bleuel H, Deschl U, Bertsch T, Bolz G, Rebel W. Diagnostic efficiency of troponin T measurement in rats with experimental myocardial cell damage. *Exp Toxicol Pathol* 1995;47(2-3):121-127.
12. Bertsch T, Bleuel H, Deschl U, Rebel W. A new sensitive cardiac Troponin T rapid test (TROPT) for the detection of experimental acute myocardial damage in rats. *Exp Toxicol Pathol* 1999; 51;565-569.
13. O'Brien PJ, Landt Y, Ladenson JH. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin Chem* 1997b; 43:12, 2333-2338.
14. Sleeper MM, Clifford CA, Laster LL. Cardiac troponin-I in the normal dog and cat. *J Vet Intern Med* 2001;15(5): 501-503.

15. Schober KE, Cornand C, Kirbach B, Aupperle H, Oechtering G. Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus J Am Vet Med Assoc. 2002; 221(3):381-388.
16. Lobetti R, Dvir E, Pearson J. Cardiac troponins in canine babesiosis. J Vet Intern Med. 2002;16(1):63-8.
17. Makikallio K, Vuolteenaho O, Jouppila P, Rasanen J. Association of severe placental insufficiency and systemic venous pressure rise in the fetus with increased neonatal cardiac troponin T levels Am J Obstet Gynecol 2000;183(3):726-31.
18. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat (4th Ed.). WB Saunders Company, Philadelphia, 1995; pp :996-1005.
19. Fox PR. Canine myocardial disease. In: Fox PR(ed). Canine and Feline Cardiology. New York, Churchill Livingstone, 1988; pp: 467-493.
20. Fox PR. Myocardial diseases. In: Ettinger SJ (ed). Textbook of Veterinary Internal Medicine. (3rd ed) Philadelphia, WB Saunders, 1989; pp:1097-1131.
21. Ware, W.A.: Disorders of the Cardiovascular System. In: Nelson, R.W., Couto, C.G., Eds. Essentials of Small Animal Internal Medicine, 4th ed. Mosby Year Book, St. Louis, 2003; pp:114-121.
22. Başoğlu A. Veteriner Kardiyoloji, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, Konya, 1992; s:23-39.
23. Bonagura JD, O'Grady MR, Herring SD. Echocardiography. Principles of interpretation. Vet Clin Nort Am Small Anim Pract 1985;15(6): 1177-1194.
24. Çeçen G. Köpeklerde kardiyak hastalıkların tanısında radyografinin önemi. Veteriner Cerrahi Dergisi 2003; 9 (3-4):63-70.
25. Bakırel U, Bilal T. İki köpekte konjestif kardiyomiyopatinin ekokardiyografi ile tanısı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg; 1998; 4 (1-2): 83-85.
26. Darke PGG, Else RW. Canine kardiyomyopati. Vet Annu 1984;24: 237.
27. Dukes J, McEwan L, Borgarelli M, Tidholm A, Vollma AC, Häggström J. Proposed Guidelines for the Diagnosis of Canine Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. J Vet Cardiol 2003; 5(2) :7-19.

28. Lombard CW. Echocardiographic and clinical signs of canine dilated cardiomyopathy. *J small Anim Pract* 1984; 25: 59.
29. Petric AD, Tomsic K. Diagnostic Methods Of Cardiomyopathy In Dogs -Old And New Perspectives And Methods. *Slov Vet Res* 2008;45 (1): 5-14.
30. Tidholm A, Svensson H, Sylvén C. Survival and prognostic factors in 189 dogs with dilated cardiomyopathy. *J Am Anim Hosp Assoc* 1997; 33: 364–368.
31. Thomas WP. Myocardial disease of the dog. In: *Contemporary Issues in Small Animal Practice. Cardiology*. New York, Churchill Livingstone 1987; pp. 117-156.
32. Jurlander B, Clemensen P, Wagner GS, Grande P. Very early diagnosis and risk stratification of patients admitted with suspected acute myocardial infarction by the combined evaluation of a single serum value of cardiac troponin-T, myoglobin and creatine kinase MB. *Eur Heart J* 2000; 21: 382-389.
33. Rice MS. Appropriate roles of cardiac troponins in evaluating patients with chest pain. *J Am Board Fam Pract* 1999; 12(3): 214-218.
34. Azzazy HME, Christenson RH. Cardiac markers of acute coronary syndrome: Is there a case for point-of-care testing. *Clin Biochem* 2002; 35: 13-27.
35. Christenson RH, Apple FS, Morgan DL, Alonsozona GL, Mascotti K. et al. Cardiac troponin-I measurement with the Access immunoassay system: analytical and clinical performance characteristics. *Clin Chem* 1998; 44: 52-60.
36. Boccara G, Pouzeratte Y, Troncin R, Bonardet A, Boularan AM. et al The risk of cardiac injury during laparoscopic fundoplication. Cardiac troponin I and ECG study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44: 398-402.
37. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of Antemortem serum creatine kinase-MB, troponin-I and troponin-T with cardiac pathology. *Clin Chem* 2000; 46(3): 338-344.
38. O'brien PJ, Smith DE, Knechtel TJ, Marchak MA, Pruimboom-Brees I. et al. Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim* 2006;40(2): 153-71.
39. Klaus U. *Vergleichende Biochemie Der Tiere*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1990: 306-307.

40. M-Bardorff M, Hallermayer K, Schro A, Ebert C. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. *Clin Chem* 1999; 43(3): 458–466.
41. Leszyk J, Dumaswala R, Potter JD, Gusev NB, Verin AD, et al. Bovine cardiac Troponin-T: Amino acid sequences of the two isoforms. *Biochemistry* 1987; 26(22): 7035-7042.
42. Reece WO. *Physiology of Domestic Animals*, (2nd Ed). A Williams and Wilkins, USA, 1997; pp: 72-92.
43. Bertsch T, Bleuel H, Aufenanger J. et al Comparison of cardiac troponin-T and cardiac troponin-I concentrations in peripheral blood during orciprenaline induced tachycardia in rats. *Exp Toxicol Pathol* 1997; 49, 467-468.
44. Gunes V, Erdogan HM, Citil M, Ozcan K. Assay of cardiac troponins in the diagnosis of myocardial degeneration due to foot-and-mouth disease in a calf. *Vet Rec* 2005; 156: 714-715.
45. Giuliani I, Bertinchant JP, Lopez M, Coquelin H, Granier C, et al Determination of cardiac tropoin-I forms in the blood of patients with unstable angina pectoris. *Clin Bichem* 2002; 32: 111-117.
46. Adin DB, Oyama MA, Sleeper MM, Milner RJ. Comparison of canine cardiac troponin i concentrations as determined by 3 analyzers. *J Vet Intern Med* 2000: 1136-42.
47. Möckel M, Schindler R, Knorr L, Müller C, Heller G. et al. Prognostic value of cardiac troponin T and I elevations in renal disease patients without acute coronary syndromes: a 9-month outcome analysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1489-1495.
48. Koukkunen H, Penttila K, Kemppainen A, Penttila I, Halinen M, et al. Ruling out myocardial infarction with troponin T and creatine kinase MB Mass: Diagnostic and prognostic aspects. *Scand Cardiovasc J* 2001; 35: 302-306.
49. McAuliffe JJ, Robbins J. Troponin T expression in normal and pressure-loaded fetal sheep Heart. *Pediatr Res* 1991; 29: 580-585.
50. Stanton EB, Hansen MS, Sole MJ, Gawad Y, Packer M, Pitt B, Swedberg K, Rouleau JL. Cardiac troponin I, a possible predictor of survival in patients with stable congestive heart failure. *Can J Cardiol* 2005; 21:39–43.

51. Maisel AS, Bhalla V, Braunwald E. Cardiac biomarkers: a contemporary status report. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3:24–34.
52. Eggers KM, Lagerqvist B, Venge P, Wallentin L, Lindahl B. Persistent cardiac troponin I elevation in stabilized patients after an episode of acute coronary syndrome predicts long-term mortality. *Circulation* 2007;116:1907–1914.
53. Collinson PO, Gaynor GH, Gaze DC. Cardiac troponin I measurement using the ACS: 180 to predict four-year cardiac event rate. *Ann Clin Biochem* 2008;45: 184–188.
54. Fonarow GC, Peacock WF, Horwich TB, Phillips CO, Givertz MM, Lopatin M, Wynne J. Usefulness of B-type natriuretic peptide and cardiac troponin levels to predict in-hospital mortality from ADHERE. *Am J Cardiol* 2008;101: 231–237.
55. Lagi A, Meucci E, Cencetti S. Outcome of patients with elevated cardiac troponin I level after mild trauma. *Am J Emerg Med* 2008; 26: 248.
56. Wells SM, Sleeper M. Cardiac troponins. *J Vet Emerg Crit Care* 2008;18:235–245.
57. Oyama MA, Sisson DD. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. *J Vet Intern Med* 2004;18:831–839.
58. Spratt DP, Mellanby RJ, Drury N, Archer J. Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis of heart disease in the dog. *J Small Anim Pract* 2005;46:139–145.
59. Baumwart RD, Orvalho J, Meurs KM. Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in Boxers with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Vet Res* 2007; 68:524–528.
60. Shaw SP, Rozanski EA, Rush JE. Cardiac troponins I and T in dogs with pericardial effusion. *J Vet Int Med* 2004;18:322–324.
61. Linde A, Summerfield NJ, Sleeper MM, Wright FB, Clifford CA, Melgarejo T, Knight DH. Pilot study on cardiac troponin I levels in dogs with pericardial effusion. *J Vet Cardiol* 2006; 8:19–23.
62. Schober KE, Kirbach B, Oechtung G. Non-invasive assessment of myocardial cell injury in dogs with suspected cardiac contusion. *J Vet Cardiol* 1999;1:17–25.

63. Ricchiuti V, Sharkey SW, Murakami MM, Voss EM, Apple FS. Cardiac troponin I and T alterations in dog hearts with myocardial infarction: correlation with infarct size. *Am J Clin Pathol* 1998;110:241–247.
64. Farace G, Beardow A, Carpenter C, Yeung K, Zieba M, Ettinger SJ, Forney SD. Troponin concentrations in patients with masses or tumors. *J Vet Int Med* 2008;22:718.
65. Rishniw M, Barr SC, Simpson KW, Winand NJ, Wootton JA. Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. *Am J Vet Res* 2004; 65(1):53-8.
66. Braun JP, Diquelou A, Trumel C, Lefebvre H. Biochemical markers of cardiac damage and dysfunction in dogs and cats; 1st TSAVA “Anadolum” Continuing Education Congress, 10-11 November 2006, İstanbul.
67. Burgener IA, Kovacevic A, Mauldin GN, Lombard CW. Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs. *J Vet Intern Med* 2006; 20(2): 277-83.
68. Chema AH, Gilani SH. Cardiac myopathies in neonatal lambs: Histological and histochemical studies. *Biol Neonate* 1978; 34: 84-91.
69. Cooper TA and Ordahl CP. A single cardiac troponin-T gene generates embryonic and adult isoforms via developmentally regulated alternate splicing. *J Biol Chem* 1985; 260: 11140-11148.
70. Tunca R, Erdoğan HM, Sözmen M, Çitil M, Kadir AK, Erginsoy S, Uzlu E. Evaluation of cardiac troponin I and inducible nitric oxide synthase expressions in lambs with White Muscle Disease. *Turk J Vet Anim Sci* 2008; 33(1): 53-59.
71. Smith BP. Large Animal Internal Medicine, Mosby-year book, (3thed). Philadelphia/USA, 2002;pp :718.
72. Hungerford TG. Diseases of Livestock, (9th ed.) Mc Graw-Hill book Company, Sydney/Australia, 1990; pp: 487.
73. Bilal T. Karnivorların İç hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul, 2004; ss:1-128,
74. Greene CE. Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat, Canine Distemper, Chapter 21, WB Saunders Company, Philadelphia, 1984; pp:386-406.

75. Bader D, Kugelman A, Lanir A, Tamir A, Mula E, Riskin A. Cardiac troponin I serum concentrations in newborns: A study and review of the literature. *Clin Chim Acta* 2006;371: 61–65.
76. Hagman R, Lagerstedt AS, Fransson BA, Bergström A, Häggström J. Cardiac troponin I levels in canine pyometra. *Acta Vet Scand* 2007;49: 6.
77. Petric AD, Tomsic K. Diagnostic Methods Of Cardiomyopathy In Dogs -Old And New Perspectives And Methods. *Slov Vet Res* 2008;45 (1): 5-14.
78. Turgut K. Klinik Enzimoloji, Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis (2. Baskı) Bahçivanlar Basım Sanayi A.Ş. Konya, 2000; ss:185-189.
79. Aiello SE. The Merck Veterinary Manual, REference Guides, Merck and Co. Inc., Whitehouse Station, N.J., USA, (1998a), pp: 2192.
80. Aiello SE. The Merck Veterinary Manual, Circulatory System, Merck and Co. Inc., Whitehouse Station, N.J., USA, (1998b), pp: 1-2192.
81. Beardow AW, Buchanan JW. Chronic mitral valve disease in cavalier King Charles spaniels: 95 cases (1987–1991). *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203:1023–1029.
82. Tidholm A. Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs. *J Small Anim Pract* 1997;38: 94–98.
83. Tidholm A, Jonsson L. A retrospective study of canine dilated cardiomyopathy (189 cases). *J Am Anim Hosp Assoc* 1997; 33:544–550.
84. McEwan DJ. Canine dilated cardiomyopathy 1. Breed manifestationsand diagnosis. In *Practice* 2000; 22: 520–530.
85. Basso C, Fox PR, Meurs KM, Towbin JA, Spier AW, Calabrese F, Maron BJ, Thiene G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac death in boxer dogs: a new animal model of human disease. *Circulation* 2004;109:1180–1185.
86. O’Grady MR, O’Sullivan ML. Dilated cardiomyopathy: an update. *The Veterinary Clinics of North America. Small Anim Pract*, 2004; 34:1187–1207.
87. Meurs KM, Lacombe VA, Dryburgh K, Fox PR, Reiser PR, Kittleson MD. Differential expression of the cardiac ryanodine receptor in normal and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy canine hearts. *Human Genetics* 2006;120:111–118.

88. Schaer M. Clinical medicine of the dog and cat. Manson Publishing, (3rd ed) 2003; pp:150-151.
89. Çakıroğlu D, Meral Y, Bakırel U, Kazancı D. Cardiac Troponin Levels In Dogs With Dilate Cardiomyopathy Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2009; 15 (1): 13-17.
90. Fonfara S, Loureiro J, Swift S, James R, Cripps P, Dukes-McEwan J. Cardiac troponin I as a marker for severity and prognosis of cardiac disease in dogs, Vet J 2010;184 :334–339.
91. O’Grady, MR, Holmberg DL, Miller CW, Cockshutt JR. Canine congenital aortic stenosis: a review of the literature and commentary. Can Vet J 1989; 30: 811–815.
92. French A, Fuentes VL, Dukes-McEwan J, Darke PGG, Martin M, Corcoran B. Progression of aortic stenosis in the boxer. J Small Anim Pract 2000; 41: 451–456.
93. Fonfara S, Loureiro J, Swift S, James R, Summerfield N, Dukes-McEwan J. Too young to die? Presentation of and complications in English Springer Spaniels undergoing artificial pacing. J Vet Int Med 2008;22:763.
94. Porciello F, Rishniw M, Herndon WE, Biretoni F, Antognoni MT, Simpson KW. Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotaemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease. Aust Vet J 2008; 86:390–394.
95. Higgins RJ, Krakowka S. et al Canine Distemper Virus-Associated Cardiac Necrosis In The Dog Vet Pathol 1981;18: 472.
96. Prosek R, Sisson DD, Oyama MA, Solter PF. Distinguishing cardiac and noncardiac dyspnea in 48 dogs using plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endothelin, and cardiac troponin-I. J Vet Intern Med 2007; 21:238–242.
97. Atabek ME, Pirgon O, Oran B, Erkul I, Kurtoglu S. Increased cardiac troponin I concentration in diabetic ketoacidosis. J Pediatr Endocrinol Metab 2004; 17:1077–1082.
98. Freda BJ, Tang WH, Van Lente F, Peacock WF, Francis GS. Cardiac troponins in renal insufficiency: review and clinical implications. J Am Coll Cardiol 2002; 40:2065–2071.
99. Gunnewiek JM, Van Der Hoeven JG. Cardiac troponin elevations among critically ill patients. Curr Opin Crit Care 2004;10:342–346.

100. Makwana N, Baines P. Myocardial dysfunction in meningococcal septic shock. *Curr Opin Crit Care* 2005;11:418–423.
101. De Zoysa JR. Cardiac troponins and renal disease. *Nephrology (Carlton)* 2004;9:83–88.
102. Roongsritong C, Warraich I, Bradley C. Common causes of troponin elevations in the absence of acute myocardial infarction: incidence and clinical significance. *Chest* 2004;125:1877–1884.
103. Schober K, Kirbach B, Cornand C, Oechtering G. Diagnostic and differential diagnostic value of circulating cardiac troponins in dogs and cats. Part 2: Diagnostic importance. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K Kleintiere/Heimtiere* 2002;30:326–332.
104. Robinson WF, Huxtable CR, Pass DA. Canine parvoviral myocarditis: a morphologic description of the natural disease. *Vet Pathol* 1980;17:282-93.
105. Si-Kwang Liu. Myocarditis and cardiomyopathy in the dog and cat, , *Heart and Vessels*, 1985; 1:122-126.