

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

**DENEYSEL KETOZİS OLUŞTURULAN KOYUNLARDA  
PARENTERAL LİPİT EMÜLSİYONLARININ TEDAVİ EDİCİ  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Reyda ŞIKLAROĞLU KIYICI**

**Danışman  
Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ**

**Doktora Tezi**

**Aralık 2012  
KAYSERİ**

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

**DENEYSEL KETOZİS OLUŞTURULAN KOYUNLARDA  
PARENTERAL LİPİT EMÜLSİYONLARININ TEDAVİ  
EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Reyda ŞIKLAROĞLU KIYICI**

**Danışman  
Prof. Dr.Vehbi GÜNEŞ**

**Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
TSY.09.670 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2012  
KAYSERİ**

**BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

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

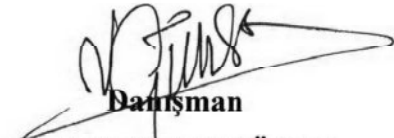
**Adı-Soyadı: Reyda ŞIKLAROĞLU KIYICI**

**İmza :** 

**YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI**

**“Deneyisel Ketozis Oluşturulan Koyunlarda Paranteral Lipit Emülsiyonlarının Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması”** adlı **Doktora Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

  
**Tezi Hazırlayan**  
**Reyda ŞIKLAROĞLU KIYICI**

  
**Danışman**  
**Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ**

  
**Anabilim Dalı Başkanı**  
**Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ**

**Prof.Dr.Vehbi GÜNEŞ** danışmanlığında **Reyda ŞIKLAROĞLU KIYICI** tarafından hazırlanan “**Deneyisel Ketozis Oluşturulan Koyunlarda Parantral Lipit Emülsiyonlarının Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner İç Hastalıkları** Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

20/12/2012

### JÜRİ

Danışman : Prof.Dr.Vehbi GÜNEŞ (Veteriner Fak.İç Hast.AD)

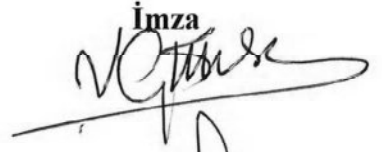
Üye : Prof.Dr.İsmail ŞEN (Selçuk Ün.Vet.Fak. İç Hast.AD)

Üye : Prof.Dr.İhsan KELEŞ (Veteriner Fak.İç Hast.AD)

Üye : Doç.Dr.Meryem EREN (Veteriner Fak.Biyokimya AD)

Üye : Doç.Dr.Öznur ARSLAN (Veteriner Fak.İç Hast.AD)

İmza







### ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

**Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR**  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve doktora tezi çalışmalarım sırasında yaşadığım bazı olumsuzluklara rağmen her zaman yanımda olan, hoşgörü ve sabırla yol gösteren, bilgilerini, tecrübe ve emeklerini esirgemeyen, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı ve aynı zamanda danışmanım olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ'e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca yardımlarından dolayı İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi değerli hocam Sayın Prof. Dr. İhsan KELEŞ'e, deneme aşamasında yardımlarını ve fikirlerini aldığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, tanımaktan onur duyduğum değerli hocam Sayın Doç. Dr. Öznur ASLAN'a, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali Cesur ONMAZ'a, tezin laboratuvar çalışmaları aşamasında yardımcı olan ve imkan sağlayan Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Müberra Koşar'a ve analizlerin yapılmasında çok değerli yardımlarını esirgemeyen Dekan Yardımcısı Sayın Yrd. Doç. Dr. Betül AYCAN'a ,

Koyunlardan kan alımı, ELİSA analizleri ve diğer analizlerde yardımcı olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Mehmet ULUSAN'a, Doktora Öğrencisi İlknur KARACA BEKDİK'e, kan alımları ve serum uygulamaları esnasında koyunların zaptı raptında barınağın temizliğinde, koyun denemelerimle ilgili işlemlerde yardımcı olan 2011-2012 eğitim ve öğretim yılı Veteriner Fakültesi dördüncü sınıf öğrencilerine; tez projesini TSY.09.670 proje koduyla maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yetkililerine;

Çalışmalarım sırasında ve hayatım boyunca maddi ve manevi her türlü fedakarlığı esirgemeyen çok kıymetli babam Erol ŞIKLAROĞLU'na, annem Hanife ŞIKLAROĞLU'na ve kardeşim Namık ŞIKLAROĞLU'na;

Her konuda sabırla, gönülden yardımcı olan eşim Tarkan KIYICI'ya ve biricik kızım Jineps KIYICI'ya en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Doktora eğitimim sırasında kaybettiğimiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi değerli hocam Sayın Doç.Dr. Yücel ÇAM'ı rahmetle ve saygıyla anıyorum.

Eğitim insan hayatına önemli katkılar sağlayan ve sınırsız olmayan bir ihtiyaçtır. Daha ilk günden itibaren eğitime olan ihtiyacımı gidermek için bana emek veren herkese teşekkür ediyor ve hepsini saygıyla anıyorum.

## **DENEYSEL KETOZİS OLUŞTURULAN KOYUNLARDA PARENTERAL LİPİT EMÜLSİYONLARININ TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Rey da ŞIKLAROĞLU KIYICI**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı**

**Doktora Tezi, Aralık 2012**

**Danışman: Prof.Dr. Vehbi GÜNEŞ**

### **ÖZET**

Bu çalışmanın temel amacı; yem sınırlaması yapılarak ve phlorizin enjekte edilerek deneysel ketozis oluşturulan vücut kondüsyon skoru normal, gebe olmayan ve laktasyon dönemi dışındaki koyunlarda dekstroz infüzyonlarına karşı, % 20'lik ticari total parenteral lipit emülsiyonları'nın (TPLE) tedavi üzerindeki etkinliğini araştırmaktır. Onsekiz adet gebe olmayan ve laktasyon dönemi dışındaki koyun her grupta 6 koyun olacak şekilde 3 farklı gruba ayrıldı. Kontrol (GRUP I: % 0,9 NaCl) ve deneme gruplarının (GRUP II: % 30 Dekstroz, GRUP III: % 20'lik TPLE) herbirine üç gün boyunca phlorizin enjeksiyonları ve yem sınırlaması yapılarak deneysel ketozis oluşturuldu. Phlorizin etanol içerisinde çözündürülerek 100 mg / kg dozunda derialtı yolla enjekte edildi. Phlorizin enjeksiyonundan önceki (0. saat) ve sonra 1.gün 2. saat, 2. gün, 3. gün, 4. gün, 4. gün 2. saat, 4. gün 6. saat, 5. gün, 6. gün ve 7. gün olmak üzere her üç gruptan kan ve idrar numuneleri alındı. Ketonuri ve klinik belirtiler 4. gün gözlemlendi. Aynı gün tedavi amacı ile enjeksiyonlar her bir grup için yapıldı. Esterleşmemiş yağ asitlerinin (NEFA), Beta hidroksibütirik asit (BHB) gibi diğer biyokimyasal parametrelerin serum konsantrasyonları tayin edildi. Hipoglisemi, glikozüri, ketonemi ve yüksek NEFA düzeyleri her grupta phlorizin enjeksiyonundan sonra belirlendi. Ortalama serum glukoz konsantrasyonlarının phlorizin uygulaması ve açlık dönemi boyunca doğrusal azaldığı belirlendi. Esterleşmemiş yağ asitleri açlık döneminde phlorizin enjeksiyonu ile doğrusal olarak arttı. Grup III de ortalama NEFA düzeyleri 4. gün 2. saat ve 6. saat esnasında diğer gruplardan belirgin oranda yüksekti ( $p < 0.05$ ). Ortalama BHB konsantrasyonları phlorizin enjeksiyonu ile arttı ancak bu değişiklikler anlamlı değildi. Grup III'de ortalama serum trigliserid konsantrasyonları anlamlı oranda phlorizin ve açlık dönemi boyunca doğrusal azalmış olmasına karşın, 4. gün 2. saatde diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Sonuç olarak, bu veriler ışığında 3 gün boyunca günlük phlorizin enjeksiyonu ve aç bırakılarak deneysel açlık ketozisi oluşturulan gebe olmayan koyunlarda % 20 TPLE'nin açlık ketozisinin klinik belirtilerini baskıladığı belirlendi. Lipit emülsiyonu ile yapılan tedavinin ortalama glikoz ve trigliserid düzeylerinde artış sağlayarak olumlu bir etki yaptığı, fakat NEFA düzeylerini artırarak olumsuz etkiler de oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Açlık,  $\beta$ -Hidroksi Bütirik Asit, Esterleşmemiş Yağ Asitleri, Ketozis, Parenteral Lipit Emülsiyonları

**THE INVESTIGATION OF EFFECTS ON TREATMENT WITH TOTAL PARENTERAL LIPID EMULSION IN SHEEP OCCURED EXPERIMENTALLY STARVATION KETOSIS**

**Rey da ŞIKLAROĞLU KIYICI**

**Erciyes University, Graduate School of Health Sciences**

**Department of Internal Medicine**

**PhD Thesis, December 2012**

**Supervisor: Prof. Vehbi GÜNEŞ**

**ABSTRACT**

The main objective of this study was to investigate the effect(s) of Total Parenteral Lipid Emulsions (TPLE) in stead of traditional Dekstroz administration in the treatment of experimentally induced starvation ketosis provided by feed restriction and phlorizin injection in non-pregnant sheep, having normal body condition score and were outside of the lactation period. A total of 18 nonpregnant-nonlactating sheep were divided into 3 different groups each containing six sheep. Control (GROUP I: 0,9% NaCl) and experimental groups (GROUP II: 30% Dekstroz, GROUP III: %20 TPLE) were used to evaluate the effect of 20% TPLE on experimental ketosis induced by phlorizin and feed restriction for three days. Sheep in all groups were subjected to the phlorizin injection (100 mg/kg S.C.) dissolved in etanol. Before (0. hour) and after phlorizin injections blood and urine samples were taken from each three groups at 1<sup>th</sup> day 2<sup>nd</sup> hours, 2<sup>nd</sup> day, 3<sup>th</sup> day, 4<sup>th</sup> day, 4<sup>th</sup> day 2<sup>nd</sup> hours, 4<sup>th</sup> day 6<sup>th</sup> hours, 5<sup>th</sup> day, 6<sup>th</sup> day and, 7<sup>th</sup> day. Ketonuri and clinical signs were observed at 4<sup>th</sup> day and the injections aimed for treatment were made to each group at this time. Serum concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA), Beta hydroxybutyric (BHB) acid as well as other biochemical parameters were determined. Hypoglycemia, glycosuria, ketonemia and high NEFA levels were determined after phlorizin injection in all groups. Concentrations of mean serum glucose decreased linearly with the administration of phlorizin dose and during starvation period. Nonesterified fatty acid concentrations increased mildly and linearly after phlorizin injection and during the starvation period. Mean NEFA levels were significantly higher during 4<sup>th</sup> day 2<sup>nd</sup> hour and 6<sup>th</sup> hour than those of other sampling times (p<0.05). The mean BHB concentrations increased after phlorizin injection but this changes were not significant. Concentrations of mean serum triglyceride significantly decreased in a linear manner after administration of phlorizin and during starvation period. Mean triglyceride levels in group III were significantly higher than those of other groups from 4<sup>th</sup> day 2<sup>nd</sup> hours to 5<sup>th</sup> day (p<0.05). In conclusion, these data indicate that starvation ketosis can experimentally be induced by daily phlorizin injection together with 3 days starvation in sheep. Clinical signs of starvation ketozis in non-pregnant sheep might be inhibited by 20% TPLE. Increase in glucose and triglyceride levels obtained after TPLE treatment considered as positive effects of the treatment. But NEFA levles were also increased after TPLE treatment which is considered as negative effect of the treatment.

**Keywords:** Ketozis, Nonesterified fatty acid, Parenteral Lipid Emultion, Starvation,  $\beta$ -Hydroksi Butirik Acid,

## İÇİNDEKİLER

**Sayfa No**

|                                                            |       |
|------------------------------------------------------------|-------|
| İÇ KAPAK.....                                              | i     |
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....                       | ii    |
| YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....                            | iii   |
| KABUL VE ONAY SAYFASI.....                                 | iv    |
| TEŞEKKÜR.....                                              | v     |
| ÖZET .....                                                 | vi    |
| ABSTRACT.....                                              | vii   |
| İÇİNDEKİLER.....                                           | viii  |
| KISALTMALAR.....                                           | x     |
| TABLO, ŞEKİL ve FOTOĞRAF LİSTESİ.....                      | xi    |
| <br>1. GİRİŞ ve AMAÇ.....                                  | <br>1 |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                    | 4     |
| 2.1. YAĞ ASİDİ METABOLİZMASI .....                         | 5     |
| 2.1.1. Keton Cisimleri.....                                | 5     |
| 2.1.2. Keton Cisimleri Metabolizması.....                  | 8     |
| 2.1.3. Ketogenezis .....                                   | 8     |
| 2.1.4. Ketogenezisin Kontrolü.....                         | 13    |
| 2.1.5. Ketoliz.....                                        | 14    |
| 2.2. RUMİNANTLARDA AÇLIK KETOZİSİ .....                    | 15    |
| 2.2.1. Açlık ketozisinde metabolik değişimler .....        | 17    |
| 2.3. KOYUNLARDA GEBELİK TOKSEMİSİ.....                     | 18    |
| 2.3.1. Etiyoloji.....                                      | 18    |
| 2.3.2. Risk Faktörleri .....                               | 19    |
| 2.3.3. Patogenezis .....                                   | 19    |
| 2.3.4. Klinik görünüm.....                                 | 20    |
| 2.3.5. Tedavi.....                                         | 20    |
| 2.3.6. Korunma.....                                        | 21    |
| 2.3.7. Projenin hipotezi.....                              | 21    |
| 2.4. PHLORİZİN .....                                       | 22    |
| 2.4.1. Diabetes mellitus açısından phlorizin geçmişi ..... | 23    |
| 2.4.2. Phlorizin ve hücrel Glikoz taşıma.....              | 24    |
| 2.4.3. Bir Medikal Botanik: Phlorizin .....                | 25    |
| 2.4.4. Phlorizin farmakolojisi .....                       | 26    |

**Sayfa No**

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4.5. Phlorizin Toksikolojisi .....                                              | 27 |
| 2.4.6. Renal glikozüri .....                                                      | 28 |
| 2.4.7. Phlorizin'in Gelecekte Kullanım Alanları .....                             | 28 |
| 2.5. PARENTERAL LİPİT EMÜLSİYONLARI VE KULLANIM ALANLARI.....                     | 29 |
| 2.5.1. Lipid Emülsiyonlarının Komplikasyonları.....                               | 30 |
| 2.5.2. Lipid Emülasyonuna Ait Reaksiyonlar .....                                  | 31 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                           | 32 |
| 3.1. GEREÇ.....                                                                   | 32 |
| 3.1.1. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar.....                                      | 32 |
| 3.1.2. Araştırmada Kullanılan Çalışma Grupları .....                              | 33 |
| 3.1.3. Araştırmada Kullanılan Araç Gereç, Kimyasal<br>Maddeler ve Malzemeler..... | 37 |
| 3.2. YÖNTEM.....                                                                  | 43 |
| 3.2.1. Klinik Muayene .....                                                       | 43 |
| 3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması.....                                           | 43 |
| 3.2.4. Kan Örneklerinin İşlenmesi.....                                            | 44 |
| 3.2.5. Örnek Analizleri.....                                                      | 44 |
| 3.2.6. İstatistik Analizler .....                                                 | 44 |
| 4. BULGULAR.....                                                                  | 46 |
| 4.1. KLİNİK MUAYENE BULGULARI.....                                                | 46 |
| 4.2. SERUM BİYOKİMYA BULGULARI.....                                               | 47 |
| 4.3. HEMATOLOJİ ANALİZİ BULGULARI .....                                           | 63 |
| 4.4. İDRAR DEEP-STICK ANALİZİ BULGULARI.....                                      | 66 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....                                                         | 71 |
| 6. KAYNAKLAR.....                                                                 | 80 |
| EKLER                                                                             |    |
| ETİK KURUL ONAY BELGESİ                                                           |    |
| ÖZGEÇMİŞ                                                                          |    |

**KISALTMALAR**

|        |                                       |
|--------|---------------------------------------|
| AcAc   | Asetoasetat                           |
| ALP    | Alkalın fosfataz                      |
| AST    | Aspartat aminotransferaz              |
| BHB    | $\beta$ -Hidroksi bütirik asit        |
| CPT 1  | Karnitin Palmito il Transferaz 1      |
| DKA    | Diyabetik Ketoasidoz                  |
| EDTA   | Etilendiamintetra-asetat              |
| GGT    | Gamma Glutamil Transferaz             |
| GT     | Gebelik Toksemisi                     |
| GLUTs  | Kolaylaştırıcı Glikoz Taşıyıcıları    |
| (3-HB) | 3-Hidroksibütirat                     |
| HBD    | Hidroksibütirat dehidrogenaz          |
| Ko-A   | Koenzim A                             |
| MAT    | Metilasetoasetil CoA tiyolaz          |
| NEFA   | Esterleşmemiş Yağ Asidi               |
| PEM    | Protein Enerji Malnutrisyonu          |
| SCOT   | Süksinil KoA-Oksoasit Transferaz      |
| SGLTs  | Sodyum-Bağlantılı Glikoz Taşıyıcıları |
| TPLE   | Total Parenteral Lipid Emülsiyonu     |
| TCA    | Tri Sitrik Asit                       |

## TABLO,ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                                                      | <u>Sayfa No</u> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>Şekil 2.1.</b> Keton cisimleri sentezi .....                                                                                                                                                                      | 7               |
| <b>Şekil 2.2.</b> Başlıca keton cisimlerinin yapıları .....                                                                                                                                                          | 8               |
| <b>Şekil 2.3.</b> Keton cisimlerinin yakıt kaynağı olarak kullanılması .....                                                                                                                                         | 9               |
| <b>Şekil 2.4.</b> Glikoz ve yağ asidi metabolizması ve hepatositlerde keton cisimlerinin oluşum ilişkisi .....                                                                                                       | 10              |
| <b>Şekil 2.5.</b> Keton oluşumunda rol oynayan hepatosit enzimler .....                                                                                                                                              | 11              |
| <b>Şekil 2.6.</b> Glikoz ve lipid metabolizması hepatosit ve adipositlerin ilişkisi .....                                                                                                                            | 12              |
| <b>Şekil 2.7.</b> Keton cisimleri karaciğerde sentezlendikten sonra difüzyon yolu ile kana geçerler ve birçok ekstra hepatik dokuda (kalp, iskelet kası ,böbrek,beyin) enerji kaynağı olarak kullanılır. ....        | 14              |
| <b>Şekil 2.8.</b> Keton cisimleri oluşumunda enzimler .....                                                                                                                                                          | 15              |
| <b>Şekil 2.9.</b> Phlorizinin kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                  | 22              |
| <b>Şekil 3.1.</b> Deri altı phlorizin enjeksiyonu.....                                                                                                                                                               | 35              |
| <b>Şekil 3.2.</b> Kulak venasına uygulanmış kateter ile TPLE'nun verilmesi .....                                                                                                                                     | 36              |
| <b>Şekil 3.3.</b> TPLE'nun verilmesi esnasında genel görünüm.....                                                                                                                                                    | 36              |
| <b>Şekil 3.4.</b> Çalışmada elde edilen serum örnekleri, mikropipet ve uçları.....                                                                                                                                   | 38              |
| <b>Şekil 3.5.</b> Multi Fonksiyonel Mikroplaka Okuyucu, Biotec, Synergy HT, (A.B.D.).....                                                                                                                            | 39              |
| <b>Şekil 3.6.</b> Multi Fonksiyonel Mikroplaka Okuyucu, Biotec, Synergy HT, (A.B.D.) ve monitör. ....                                                                                                                | 40              |
| <b>Şekil 3.7.</b> Phlorizin dihydrate, elma ağacı kabuğundan elde edildi.....                                                                                                                                        | 41              |
| <b>Şekil 3.8.</b> % 30'luk Dekstroz solusyonu (Dekstro-fleks, 500 ml).....                                                                                                                                           | 42              |
| <b>Şekil 3.9.</b> % 20'lik TPLE solusyonu (İntralipid %20, 500 ml).....                                                                                                                                              | 43              |
| <b>Şekil 3.10.</b> Kan örneklerini içeren tüpler. ....                                                                                                                                                               | 44              |
| <b>Şekil 4.1.</b> Ortalama serum NEFA (Esterleşmemiş yağ asitleri) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat ..... | 54              |
| <b>Şekil 4.2.</b> Ortalama serum BHB (Beta hidroksi bütirik asit) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat.....   | 55              |
| <b>Şekil 4.3.</b> Ortalama serum BUN (Beta hidroksi bütirik asit) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat .....  | 56              |
| <b>Şekil 4.4.</b> Ortalama serum Kreatinin düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat .....                         | 57              |

**Sayfa No**

|                    |                                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.5.</b>  | Ortalama serum Total protein düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat .....                 | 58 |
| <b>Şekil 4.6.</b>  | Ortalama serum Albümin düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat...                          | 59 |
| <b>Şekil 4.7.</b>  | Ortalama serum Alkalen fosfataz (ALP) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat.....         | 59 |
| <b>Şekil 4.8.</b>  | Ortalama serum Aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat..... | 60 |
| <b>Şekil 4.9.</b>  | Ortalama serum Gamaglutamil transferaz (GGT) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat.....  | 61 |
| <b>Şekil 4.10.</b> | Ortalama serum Trigliserit düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat .....                   | 62 |
| <b>Şekil 4.11.</b> | Ortalama serum Glikoz düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat .....                        | 63 |
| <b>Şekil 4.12.</b> | Koyunlarda açlık ketozisine bağlı idrar pH sıdaki değişimler.....                                                                                                                              | 68 |
| <b>Şekil 4.13.</b> | Koyunlarda açlık ketozisine bağlı idrar keton düzeylerindeki değişimler .....                                                                                                                  | 69 |
| <b>Şekil 4.14.</b> | Koyunlarda açlık ketozisine bağlı idrar glikoz düzeylerindeki değişimler .....                                                                                                                 | 70 |
| <b>Tablo 4.1</b>   | Kontrol ve deneme gruplarına ait klinik bulgular .....                                                                                                                                         | 48 |
| <b>Tablo 4.2</b>   | Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Esterleşmemiş yağ asidi (NEFA) ve Beta hidroksi bütirik asid (BHB) konsantrasyonları.....                                                               | 49 |
| <b>Tablo 4.3.</b>  | Kontrol ve deneme gruplarının ortalama kan üre nitrojen (BUN) ve kreatinin konsantrasyonları .....                                                                                             | 50 |
| <b>Tablo 4.4.</b>  | Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Total protein ve Albümin konsantrasyonları .....                                                                                                        | 51 |
| <b>Tablo 4.5.</b>  | Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Aspartat aminotransferaz (AST), Gamaglutamil transferaz (GGT) ve Alkalen fosfataz (ALP) aktiviteleri.....                                               | 52 |
| <b>Tablo 4.6.</b>  | Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Trigliserid ve Glikoz konsantrasyonları...                                                                                                              | 64 |
| <b>Tablo 4.7.</b>  | Kontrol ve deneme gruplarına ait ortalama Total lökosit, eritrosit ve hemoglobin düzeyleri .....                                                                                               | 65 |
| <b>Tablo 4.8.</b>  | Kontrol ve deneme gruplarına ait idrar özgül ağırlığı (İÖA), pH ve protein düzeyi değişimleri .....                                                                                            | 66 |
| <b>Tablo 4.9.</b>  | Kontrol ve deneme gruplarına ait idrar glikoz ve keton düzeyi değişimleri.....                                                                                                                 | 67 |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bu çalışmanın amacı; gebelik ve laktasyon dönemi dışında yem sınırlaması yapılan koyunlarda, phlorizin enjekte edilerek deneysel açlık ketozisi oluşturmak ve bu koyunlarda total parenteral lipit emülsiyonlarının (TPLE) tedavi edici etkinliğinin olup olmadığını belirlemektir. Bu amaçla vücut kondüsyon skoru normal olan, gebe olmayan ve laktasyon dönemi dışındaki koyunlarda dekstroz infüzyonlarına karşı, % 20'lik ticari TPLE'nin tedavi üzerindeki etkinliği araştırıldı. Bu tez çalışmasında, deneysel açlık sonucu ketozisin klinik ve biyokimyasal belirtileri oluşturulan koyunlarda kan glikoz,  $\beta$ -Hidroksi bütirik asit (BHB), esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) ve klinik görünüm üzerinde Dekstroz ve TPLE'nin karşılaştırmalı etkileri belirlendi.

Projede kullanılmış olan TPLE'lerinin yüksek kalori içermesi özelliği dikkate alınarak, özellikle yeterli beslenemeyen, kronik hastalık tablosu bulunan (paraziter v.s.) koyunlar ile gebelik toksemisi ve sığır ketozisi vakaları için tedavi edici bir model oluşturulabileceği düşünüldü. Bu nedenle yukarıda belirtilen deney düzeneği kapsamında söz konusu hipotezin doğruluğu araştırıldı.

Sığırlardaki Tip II klinik ketozisin koyunlardaki benzer hastalık formu gebelik toksemisidir (GT). Gebelik toksemisi koyun ve keçilerin metabolik bir hastalığı olup genellikle gebeliğin son dönemlerinde gelişir. Birçok vakada hipoglisemi ve vakaların tümünde hiperketonemi oluşur (1). Bazı koyun ırklarından özellikle ikiz ya da üçüz fötüs taşıyan koyunlar tek fötüs taşıyanlardan daha duyarlıdır (2,3). Hastalık koyunların

gelişmekte olan fötusun artan enerji ihtiyacını karşılayamaması sonucu meydana gelir. İki veya daha fazla kuzu taşıyan, gebeliğin ileri döneminde olan koyunlarda, tek fötus taşıyan koyunlara göre daha yüksek BHB, düşük plazma glikoz ve insülin konsantrasyonlarının olduğu bildirilmiş olup, bununla birlikte hala gebeliğin sonlarındaki tüm koyunlar için enerji talebinde artış olup olmadığı geçerli değildir (3). Sütçü ineklerde sığır ketozisi genellikle laktasyon döneminin başlarında gelişir. Ayrıca koyunlarda negatif enerji balansı oluşumu, laktasyon başlangıcında gebeliğin son döneminde oluşan negatif enerji balansından daha fazladır (4). Dolayısı ile koyunlarda vücut rezervlerinin mobilizasyon oranları laktasyonun ilk haftasında gebeliğin geç döneminden daha yüksektir (5). Bu yüzden gebelik toksemisinin neden hala gebeliğin son dönemlerinde daha fazla olduğu belirlenememiştir. Vücut rezervlerindeki mobilizasyon ve ketogenez oranı üreme döngüsünde maksimum oranlara ulaşmaz (6). Ayrıca koyunların gebelik toksemisinin tedavi stratejilerine ineklerin ketozisinden neden daha az tepki verdiğini açıklamak zordur (7,8).

Bir koyun sürüsünde GT salgınları ortaya çıktığında, morbiditenin % 5-20 arasında olduğu; bununla birlikte özellikle tedavi edilmeyen hayvanlarda mortalite oranlarının % 80'i aşması nedeniyle önemli ekonomik kayıpların olduğu bildirilmektedir. Gebelik toksemisinin tedavi planında, zorunlu durumlarda zaman kaybetmeden sezaryan operasyonunun yapılabileceği belirtilse de operasyona rağmen tedavi şansı zayıftır (8). Bu nedenle GT'li koyunlarda farklı ve yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi gereklidir.

Hospitalize edilen insanlarda kalori ve esansiyel yağ asitleri ihtiyacını karşılamak amacıyla TPLE'leri güvenli şekilde kullanılmaktadır. Koyunların GT' de ise başlıca oluşan karbonhidrat ve lipit metabolizmalarındaki bozulma ve katabolik etkilerin düzeltilmesi, yağ mobilizasyonunun önlenmesi, bu sayede keton cisimlerinin oluşumunun durdurulması ve kalori ihtiyacının sağlanması amaçlarıyla bahsi geçen dengeli emülsiyonların, deneysel koyun ketozisinin tedavisindeki etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla bu doktora tez projesi planlanmıştır.

Parenteral lipit emülsiyonlarının rutin klinik uygulaması 1961'de soya yağı bazlı lipit emülsiyonlarının (LE) gelişimi ile başladı (9). Bu emülsiyonlar intravenöz beslenme gerektiren hastalarda, enerji ve esansiyel yağ asitleri kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca büyük ölçüde enerji kaynağının gerekli veya arzu edilir olduğu preoperatif ve

postoperatif beslenme bozukluklarında azot dengesinin düzeltilmesi amacıyla kullanılırlar. Gastrointestinal sistem tümörleri, akut veya kronik barsak hastalıkları gibi absorpsiyon yetersizliğine bağlı beslenme bozukluğu veya azot dengesizliği ile seyreden durumlarda, yaygın yanıklarda aşırı azot kaybını azaltmak için her türlü ek enerji kaynağı büyük önem taşır. Sağlanan enerji oral olarak alınacak proteinlerin kullanımını da artırır. Ağızdan beslenmenin yetersiz olduğu hastalarda da intravenöz yağ emülsiyonları kullanılır. Ağır katabolik durumlarda hipermetabolik komplikasyonlardan kaçınmak ve kalorik ihtiyacı karşılamak için parenteral lipid emülsiyonlarından yararlanılır. Kafa travması veya zehirlenmeyi izleyen uzun süreli bilinç kaybı ve tüple beslenmenin mümkün olmadığı durumlarda, kaşekside, böbrek fonksiyon bozukluğunda protein yıkımını azaltmak amacıyla yeterli enerjinin sağlanmasında kullanılmaktadır (10).

Entansif koyun yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerde sıkça rastlanılan gebelik toksemisinin son dönemlerinde koyunlar yatar, koma hali alırlar ve 4-7 gün içinde ölüme sürüklenirler. Birçok yetiştirici yapılan gerek medikal gerekse cerrahi tedavilerden umutlu olmalarına rağmen önemli koyun kayıpları kaçınılmazdır. Bazen tedaviye dahi fırsat kalmadan gebe koyunlarda fötusun ölmesi ve kokuşması sonucunda toksemi nedeniyle yine ölümler oluşabilir. Bu hastalık sonucunda doğumlar olsa bile doğan kuzuların hayatta kalma oranları düşük olabilir. Hastalığa bağlı kuzu kayıplarının yanında değerli damızlık bir koyunun kaybedilmesi yetiştiriciler için önemli ekonomik kayıplara yol açabilmektedir. Bununla birlikte ülkemizde uygun olmayan bakım ve besleme koşullarında yapılan koyunculuk işletmelerinde ve kış döneminin uzun sürdüğü yörelerde düşük kondüsyon ve verim kayıplı sürülere rastlanmaktadır. Bu tip hayvanlarda da parenteral beslemelerin ilk acil tedavi olarak uygulanması mümkün görülmektedir. Uygulanan tedaviler çoğu zaman birçok ilacın birlikte verilmesini gerekli kılabilir. Tedavi maliyeti ve koyun kaybı birlikte düşünüldüğünde işletme için zarar daha fazla olmaktadır. Etkin ve hayatta kalma oranlarını artıran yeni tedavi metotlarının ortaya konulması bu açıdan önemlidir. Bu proje ile insanlarda kullanılan TPLE'lerinin diğer parenteral uygulamalardan daha etkili olabileceği hipotezinin kanıtlanması ile veteriner klinisyenlerin koyun ve sığırlarda kullanabileceği yeni bir tedavi metodunun hekimlik alanına uygulanması mümkün olabilir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Ruminantların enerji metabolizmasını içeren ketozis, karaciğer yağlanması ve gebelik toksemisi gibi hastalıklar farklı etiyoloji ve klinik görünümlere sahip olmalarına rağmen, yağ metabolizmasındaki değişiklikler nedeniyle benzer yönlerde sahiptirler. Bu hastalıklar temelde gebeliğin son dönemlerinden köken alarak ya preparturient dönemde ya da postparturient dönemde ortaya çıkarlar. Yüksek verimli süt sığırlarında laktasyonun erken dönemlerinde negatif enerji balansı normal bir süreçtir. Yüksek süt üretimi enerji (glikoz) kaybına neden olur. Ayrıca büyüyen yavru enerji ihtiyacını arttırır. Enerji ihtiyacı gıdalarla alınan enerjinin çok üzerinde kalır. Ayrıca sindirimdeki veya metabolizmadaki bozukluklar da hücresel düzeyde bulunan glikozun yetersizliği ile sonuçlanabilir. Yetersiz enerji hipoglisemiye yol açar. Hipoglisemi, sonucunda glikoneogenezis mekanizmasında önemli derecede artış olur. Bu mekanizma amino asit ve gliserolden glikoz sentezini sağlayan yoldur. Krepps siklusu yoluyla yüksek oranlarda glikoz temini normalde bu yolla sağlanır. Sürekli bu mekanizmadan glikoz temini okzaloasetat yetersizliğine neden olurken, Asetil koenzim A'nın fazlalığı ketojenik uçucu yağ asitleri ile bunlardan da son ürün olarak keton cisimleri (aseton, beta hidroksi bütirik asit, aetoasetik asit) oluşur. Hepatik glikojen oranında azalma meydana gelirken, trigliseridin hepatic depoları ve keton cisimleri oranı artar (11,12).

Ani gıda değişimi gibi nedenlerle oluşan anoreksi veya açlık periyodları da bu metabolik bozukluklarda yan nedenlerdir. Gebelik döneminde beslenme planlarındaki kademeli geçişler önde gelen sebepleri oluşturur. Bu bozukluk kötü beslenen hayvanların bir bozukluğu değildir, fakat sıklıkla iyi besili ve son dönemlerde gıda tüketiminde bir azalmayla ortaya çıkan hastalıklardır. Yüksek glikoz kaybı ve gıda tüketimindeki azalma paralel seyrederek. Anoreksi ve açlık sonucunda bir hipoglisemi ve hiperketonemi tablosu oluşur. Tüm bu değişimler başlıca yağ asidi metabolizmasını ilgilendirir (12).

## **2.1. YAĞ ASİDİ METABOLİZMASI**

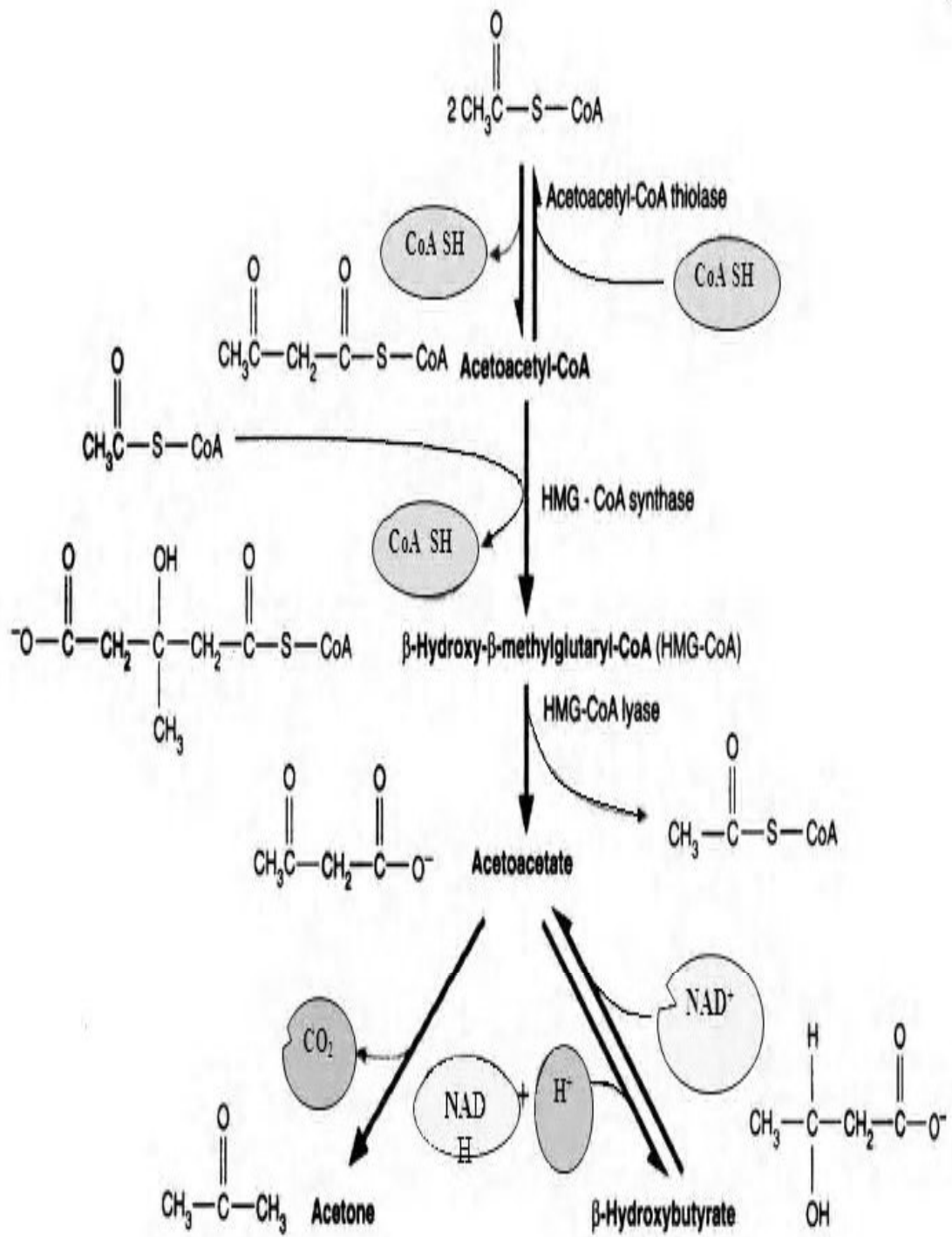
Karaciğerde veya karaciğer dışındaki bazı dokularda yağ asitlerinin yükseltgenmesinden meydana gelen asetil Ko-A'ların en büyük kısmı TCA siklusuna sevk edilir. Karaciğer asetil Ko-A'ların az bir kısmını da asetoasetik asit, 3-hidroksi bütirik asit ve aseton'a dönüştürür. Bu üç maddeye "keton cisimleri" denir. Keton cisimleri periferik dokular tarafından kandan alınarak TCA siklusuna yolu ile CO<sub>2</sub> ve suya parçalanırlar. Dokuların keton cisimleri sentezlemesine "ketogenezis" denir. Metabolizmada normal şartlarda ketolizis ve ketogenezis denge halindedir. Karaciğer, gereğinden daha fazla keton cisimleri yaparsa kanda keton cisimleri artar. Bu duruma "ketonemi" denir. Uzun süreli açlık halinde, ruminantların doğum öncesi veya sonrası şekillenen karbonhidrat, yağ protein metabolizması bozuklukları ve şeker hastalığında özellikle aseton olmak üzere keton cisimleri idrara geçer. Bu durum "ketonüri" olarak isimlendirilir. Oluşan genel tablo ise "ketozis" olarak isimlendirilir. Keton cisimlerinin artışı kanın yedek alkalisini azaltır. Buna ek olarak kan pH'sı düşer. Bu durum kanın pH'nın aside kaymasıyla karakterize olup "asidozis" veya "ketoasidozis" ismini alır (11-13).

### **2.1.1. Keton Cisimleri**

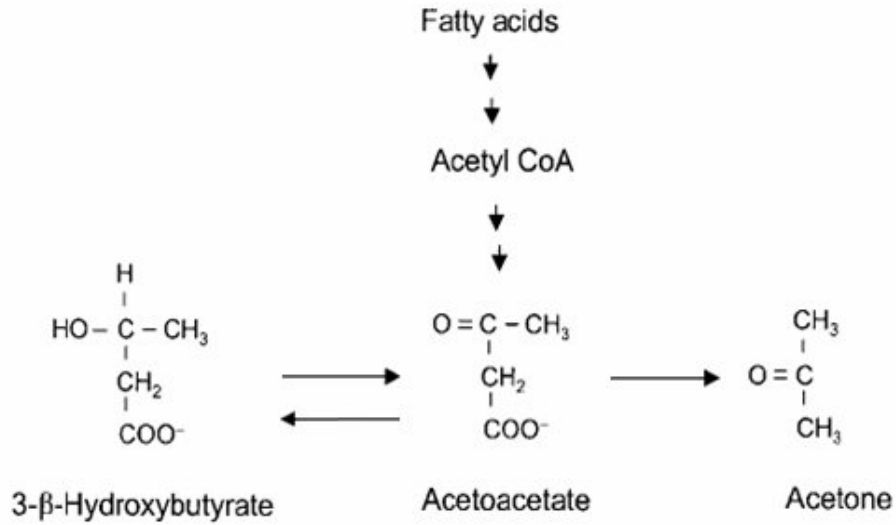
Karaciğer tarafından üretilen keton cisimcikleri, glikoz kaynağı hazır değilse periferde enerji kaynağı olarak kullanılır. Başlıca asetoasetat (AcAc) ve 3-β-hidroksibutirat (3HB) olmak üzere iki temel keton cismi olup, üçüncü ve en bol olanı ise aseton'dur. Kanda ketonlar her zaman mevcuttur. Bunların seviyeleri uzun süreli açlık ve egzersiz durumunda artış gösterir. Ayrıca yeni doğanların ve hamile kadınların kanında bulunur. Diyabet, kanda keton seviyesinin artmasının en yaygın patolojik nedenidir. Diyabetik ketoasidozda (DKA), düşük insülin düzeyleri ve yüksek düzenleyici hormon düzeylerine karşı yanıt olarak yüksek düzeylerde keton cisimleri üretilir. Keton cisimleri; AcAc, 3HB ve aseton'dur. Asetoasetik asit düşük karbonhidrat içeriği olan koşullarda yağ asidi

metabolizması süresince birikir. Betahidroksibütirik asitin mitokondri içinde AcAc'e indirgenmesi yoluyla oluşturulur. Bu iki baskın keton cisimleri, karaciğerden diğer dokulara gelen enerji bakımından zengin bileşiklerdir. Aseton, AcAc'in spontan dekarboksilasyonu ile üretilir (Şekil 2.1) ve ketoasidoz da nefeste oluşan kokudan sorumludur (11,12). Glikoz eksikliği dönemlerinde, ve proteolizin azaltılmasında keton cisimlerinin glikoz yerine kullanımı yedek bir anahtar rol oynamaktadır (11-13). Kan glikoz seviyeleri zarar gördüğünde diğer bir çok doku gibi beyin enerji için yağ asitlerinden yararlanamaz. Bu durumda keton cisimleri beyin için alternatif bir enerji kaynağı olur. Uzun süren açlık dönemlerinde beynin enerji ihtiyacının yaklaşık 2/3 'ünü karşılayabilir. Keton cisimleri, in vitro insülin salınımını uyaran oksijen radikallerini oluşturur ve lipid peroksidasyonuna neden olur (13,14). Lipid peroksidasyonu ve oksijen radikallerinin oluşumu vasküler diyabet hastalığında da rol oynayabilir.

Keton cisimleri açlık veya uzun süreli egzersiz sırasında sağlıklı bireylerin kanında az miktarlarda bulunur. Bununla birlikte, sığırların ketozis, koyunların gebelik toksemisi ile insan, köpek ve kedilerde diyabetik ketoasidoz, alkollü ketoasidoz, salisilat zehirlenmesi ve nadir karşılaşılan diğer bazı tablolar da bireylerin kanında oldukça yüksek miktarlarda bulunur. İnsan hekimliğinde keton cisimleri karaciğer transplantasyonu sonrası hepatik enerji metabolizması belirteçleri olarak kullanılmaktadır (15). Çeşitli durumlarda, serum veya idrar keton ölçümleri altta yatan hastalığın şiddetini değerlendirmek ve doğru tedavi yolu izlemek için yararlı olabilir.



Şekil 2.1. Keton cisimleri sentezi (11)



Şekil 2.2. Başlıca keton cisimlerinin yapıları (11)

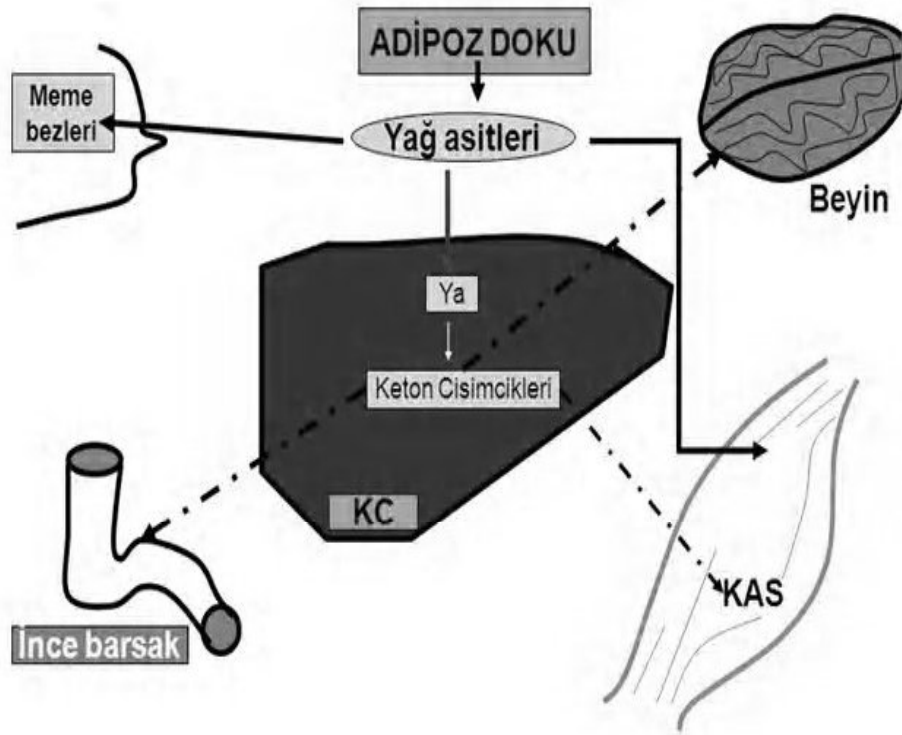
### 2.1.2 Keton Cisimleri Metabolizması

Keton metabolizması hem ketojenesis hem de ketolizisi içerir. Diğer organlar tarafından kullanılan karbonhidrat miktarı sınırlı durumdaysa örneğin beyin, kalp, böbrek korteksi ve iskelet kası gibi veya etkili şekilde kullanılamıyorsa bu biyokimyasal aktiviteleri sağlamak için yağ kökenli enerji karaciğerde üretilir. Örneğin bir gece açlıktan sonra vücudun enerji ihtiyacı % 2-6 iken 3 gece açlıktan sonra vücudun enerji ihtiyacı % 30-40'tır (Şekil 2.3).

### 2.1.3. Ketogenesis

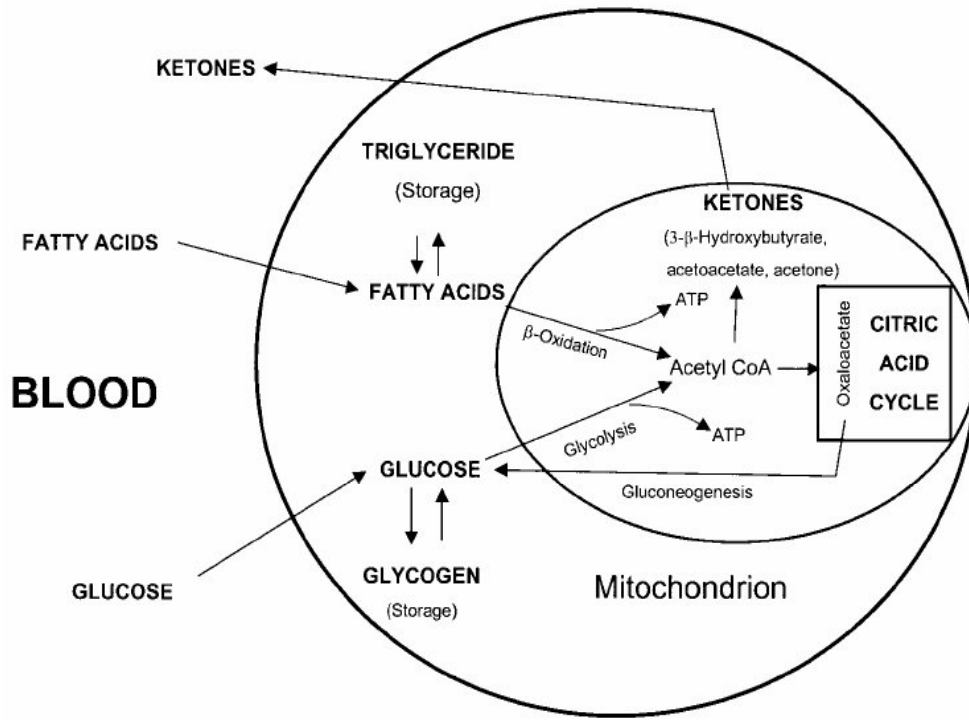
Keton cisimleri karaciğer de yağ asidi oksidasyonunun normal son ürünü olan asetil KoA dan üretilen asidik moleküllerdir. Sulu ortamda çözünebilirler, lipoproteinlerin yapısına katılmalarına ya da albümine bağlanmalarına gerek yoktur. Uzun süren açlıkta karaciğer de ilk oluşan keton cisimi AcAc'dır. Asetoasetad oluşmasında ilk basamak 2 molekül asetil KoA 'nın enzimatik kondensasyonu ile asetasetil KoA oluşmasıdır. Asetil KoA miktarı yağ asitleri oksidasyonunun kapasitesinin üzerinde olduğu zaman keton cisimleri sentezi paralel olarak artar. Keton cisimleri asetasetat, β-hidroksi bütirat ve aseton, asetasetil KoA 'dan oluşur. Asetasetil KoA , bir molekül asetil KoA ile kondanse olarak β-hidroksi-β-metilglutaril Co-A (HMG-KoA) oluşturur ki reaksiyon mitokondrial matrikste gerçekleşir. Bu reaksiyon HMG-KoA sentaz tarafından katalize

edilir.  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilglutaril Co-A (HMG-KoA) aynı zamanda kolesterol biyosentezinde ara üründür. Fakat bu yolda HMG-KoA oluşturan enzim sitozoliktir. Keton cismi biyosentezi yolunda  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilglutaril Co-A (HMG-KoA), HMG-KoA liyaz tarafından serbest asetoasetat ve asetil-KoA'ya yıkılır. Karaciğerde oluşan ilk keton cismi asetoasetattır.  $\beta$ -hidroksibutirat, serbest asetoasetatın, mitokondrial bir enzim olan  $\beta$ -hidroksibutirat dehidrojenaz etkisiyle indirgenmesi suretiyle oluşur; koenzim olarak NADH gerekir. Aseton asetoasetatın karboksil grubunun kaybı ile çok küçük miktarlarda oluşur. Aseton mobilize olmayan yan üründür (11).



**Şekil 2.3.** Keton cisimlerinin yakıt kaynağı olarak kullanılması (web.firat.edu.tr/med/ders\_notlari/tiplketon.ppt)

Ketogenesis yağ asitlerinin AcAc ve 3HB dönüştürüldüğü bir süreçtir. Bu süreç perivenöz hepatositlerin mitokondrilerinde gerçekleşmektedir (16,17). Yağ asitlerinin üretimi, yakıt olarak veya keton cisimlerine dönüşümü çeşitli faktörler tarafından belirlenmektedir (Şekil 2.4).

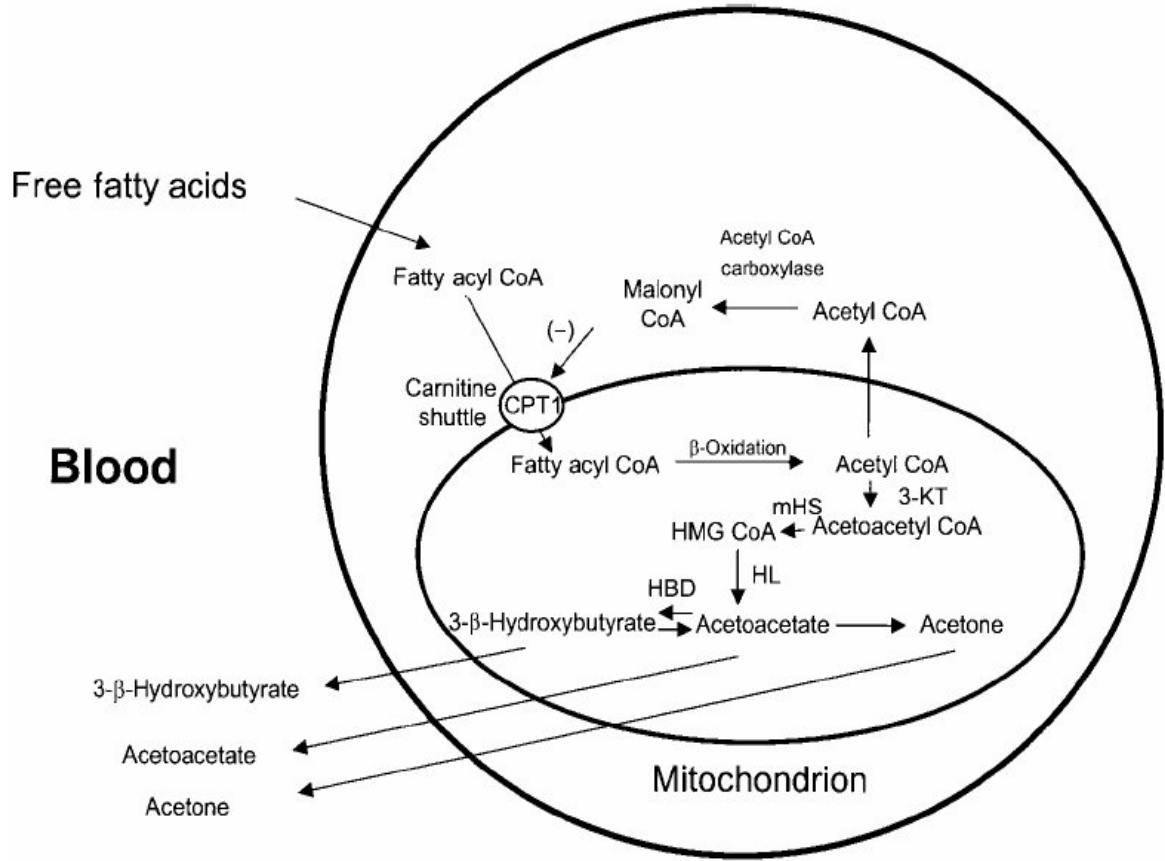


**Şekil 2.4.** Glikoz ve yağ asidi metabolizması ve hepatositlerde keton cisimlerinin oluşum ilişkisi (11).

Glikoz ve yağ asitleri, asetil KoA'ya metabolize edilir. Oksaloasetat ile yoğunlaşarak sitrik asit siklusuna girer. Oksaloasetatın glikolizisi ile piruvat elde edilir. Glikolizin çok düşük seviyelere düşmesi halinde o zaman oksaloasetat tercihen glikoneogenez işleminde kullanılmaktadır. Bu durumda oksaloasetat yağ asidi metabolizması tarafından üretilen asetil KoA ile yoğunlaştırılmak için kullanılamamaktadır ve asetil KoA sitrik asit döngüsünden keton cisimlerinin formasyonu için yönlendirilir. (11)

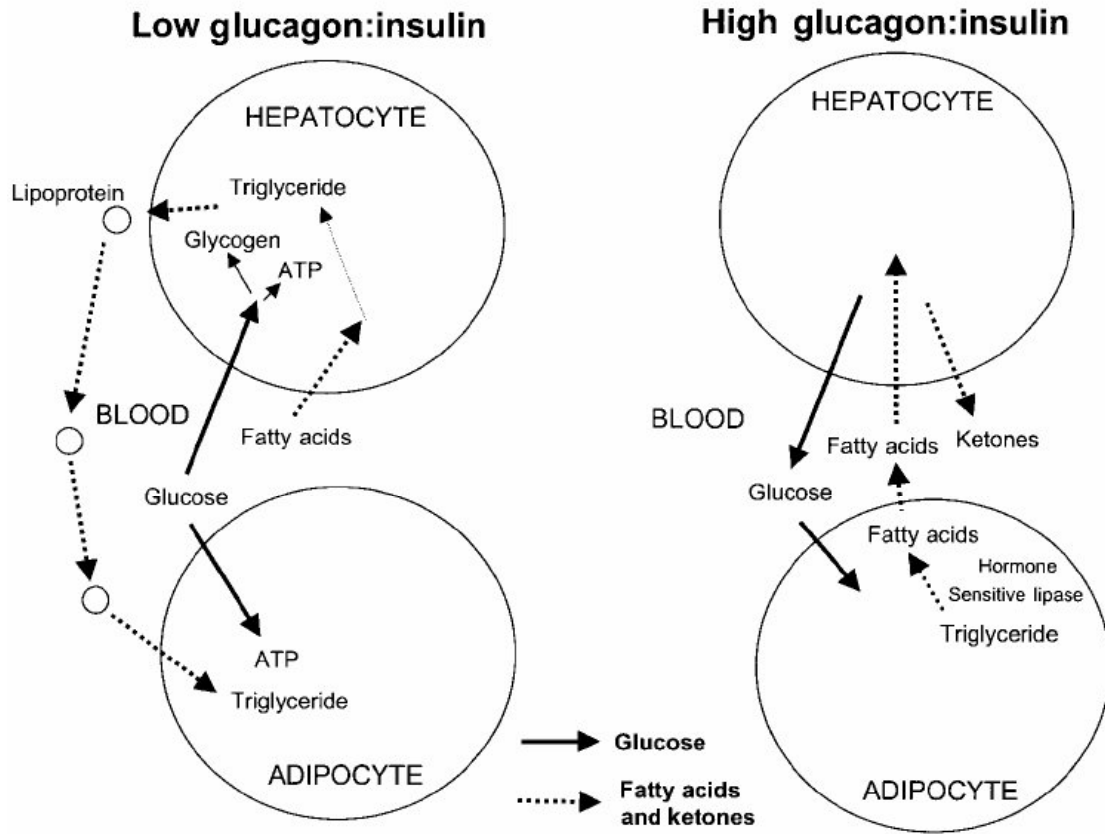
Adipoz dokulardan yağ asit üretimi epinefrin, somatotropin ve glukagon tarafından uyarılırken insülin tarafından inhibe edilir. Asetil KoA yağ asitlerinin b-oksidasyonunu veya glikozun glikolizisini takiben sitrik asit döngüsüne bağlanır. Sitrik asit döngüsüne girmek için, asetil KoA'dan ilk oksaloasetat oluşur. Oksaloasetatın glikolizisi ile piruvat elde edilir. Bu nedenle, asetil KoA ile yoğunlaşmaya yeterli oksaloasetat sağlayan glikoliz seviyesi olması esastır. Çok düşük glikoz düzeyleri oluşursa (örneğin, açlık diyabette düşük insülin düzeyleri, yetersiz karbonhidrat alımı), o zaman glikoneogenez sürecinde asetil KoA ile yoğunlaşma yerine oksaloasetat kullanılmaktadır. Asetil KoA sonra keton cisimlerinin oluşumuna yönlendirilir. Süreç şu adımlardan oluşur: yağ asitlerinin beta oksidasyonu ile asetil KoA oluşumu, acetoacetyl KoA formunun, 3-

hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-KoA)'ya ve acetoacetyl KoA dönüştürülmesi ve son olarak 3HB ile AcAc 'e indirgenme. (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Keton oluşumunda rol oynayan hepatosit enzimler (11).

Karnitin palmitoiltransferaz 1 (CPT 1) tarafından yönlendirilen karnitin mekiğinden, yağ asit KoA ile mitokondri içine taşınır. Asetil KoA karboksilaz asetil KoA dan malonil KoA üretimini katalize olur. asetil KoA karboksilaz aktivitesinin azalmış mitokondri içine yağ asitlerinin taşınması uyarır. CPT1 Malonil KoA'yı inhibe eder ,asetil KoA karboksilaz aktivitesinin azalmasıyla mitokondri içine yağ asitlerinin taşınması uyarılır. Asetoasetat, 3-HB dehidrojenaz (HBD) ile 3HB'ye indirgenir, ve asetasetatın kendiliğinden dekarboksilasyonu ile aseton oluşur (11).



**Şekil 2.6.** Glikoz ve lipid metabolizması hepatosit ve adipositlerin ilişkisi (11).

İnsülin ve glukagon kullanım oranının, glikoz ve yağ asitlerinin hepatosit ve adipositlerde depolanma oranını belirler. Ketogenesis oranı adipoz (sağ panel) dokudaki hormon sensitive lipaz aktivitesine ve asetil KoA karboksilaz ve mHS, faaliyetine bağlıdır (bakınız Şekil 3). İnsülin seviyeleri (sol panel) yüksek olduğu zaman, çoğu hücredeki glikoz enerjiye (ATP) dönüştürülür ve hepatositlerde glikojen olarak depolanır. Yağ asitleri hepatositlerde trigliseride dönüştürülür. Trigliserid sonra adipositlerde depolama için lipoproteinler tarafından taşınmaktadır. İnsülin düzeyi azaldığı zaman (sağ panel) glikojen depolar diğer hücreler tarafından yakıt olarak kullanılması için hepatositler tarafından glikoz gibi serbest bırakılmaktadır. Hormon duyarlı lipaz aktivitesi insülin ve glukagon tarafından düzenlenir, glukagon arttıkça adipositlerde depolanan trigliserit yağ asitleri olarak serbest bırakılır. Glikoz depolarının tükenmesi nedeniyle düşük glikoz seviyesi, bir çok hücrede yağ asitlerinin ana yakıt olarak kullanımını ve hepatositlerde keton üretimini artırır (11).

Keton cisimlerinin oluşumu dallanmış metabolizma yapısında olup mitokondri içerisinde oluşur. Yağ asitlerinin  $\beta$  –oksidasyonu sonucu ile oluşan asetil-KoA tamamen okside olması için TCA döngüsüne girebilir yada HMG-KoA döngüsü ile keton cisimleri oluşturabilir. Artan ketozis TCA döngüsünü inhibe edebilir, bu olay ketozis nedeni ile değilde ketozis sonucunda meydana gelmektedir. Bu nedenle HMG-KoA yolu fizyolojik bir öneme sahiptir (18).

#### 2.1.4. Ketogenezisin Kontrolü

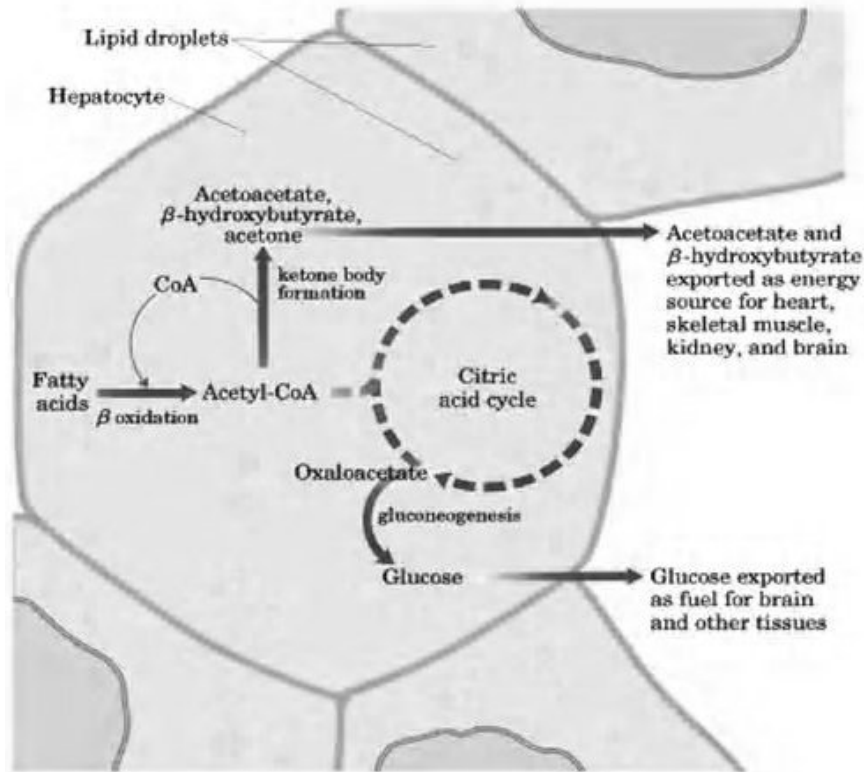
Ketogenez, karaciğer mitokondrisinde gerçekleşir. Sentez de çıkış maddesi asetil Ko-A'dır. Asetil Ko-A 'lar ayrıca yağ asidi ve steroid sentezinde, asetillendirme maddesi ve enerji oluşturmada da çıkış maddesidir. Açlıkta karaciğerde  $NADH/NAD^+$  oranı azaldığında  $\beta$ -hidroksi bütirik asit oluşumu artar.

Ketogenesis oranı üç farklı enzim aktivitesine bağlıdır. Bunlar; periferik adipositler de bulunan hormona duyarlı lipaz (ya da trigliserid lipazı), karaciğerde bulunan KoA karboksilaz ve mHS (Şekil 2.6). Bu enzimlerin ilk ikisi, hormon-sensitive lipaz ve asetil KoA karboksilaz, sirkülasyondaki ketogenesisi inhibe ederek insülin düzeyini kontrol eder ve epinefrini inhibe ederek glukagon, ketogenesisini uyarır (19-21). İnsülin keton cisimlerinin oluşumunu üç yönde azaltmaktadır. Bu farklı mekanizmalar; mevcut yağ asitlerinin azaltılması (antilipolitik etki), esterleşmenin stimülasyonu, hepatik yağ asit oksidasyonunun inhibisyonudur. Sırasıyla hormon-sensitive lipaz deaktivasyonu ve asetil KoA karboksilaz aktivasyonu ile insülin lipolisisi inhibe eder ve lipogenesisi uyarır. Diğer bir deyişle, düşük glukagon/insülin oranı ketogenezisi inhibe ederken, yüksek glukagon/insülin oranı, açlık, negatif enerji balansı ya da diyabet gibi, karaciğerde serbest yağ asitlerinin b-oksidasyonunun uyarılması ve adiposit içinde lipolizisin teşviki yoluyla ketogenesisi uyarır. Hormona duyarlı lipaz trigliseridlerin digliseridlere dönüşümünü katalize eder ve serbest yağ asitlerinin daha fazla indirgenmesi için substrat olarak görev yapar. Diğer taraftan, asetil KoA karboksilaz asetil KoA'nın malonil KoA'ya dönüşümünü katalize eder ve yağ asidi biyosentezinde primer substratın karaciğer seviyesini artırır. Doğrudan doğruya yağ asidi sentezi hızına göre ve yağ asidi oksidasyonuyla ters orantılı olarak karaciğerdeki malonil KoA seviyesi değişebilir (22). Bu yüzden, ketogenesis düzenlenmesinde malonil KoA önemli bir rol oynar. Malonil KoA düzeyinin düşük olması keton cisimlerine oksidasyon için karnitin servisi ile mitokondri içine yağ asitlerinin taşımacılığını teşvik eder. Taşıyıcı yağ açıl

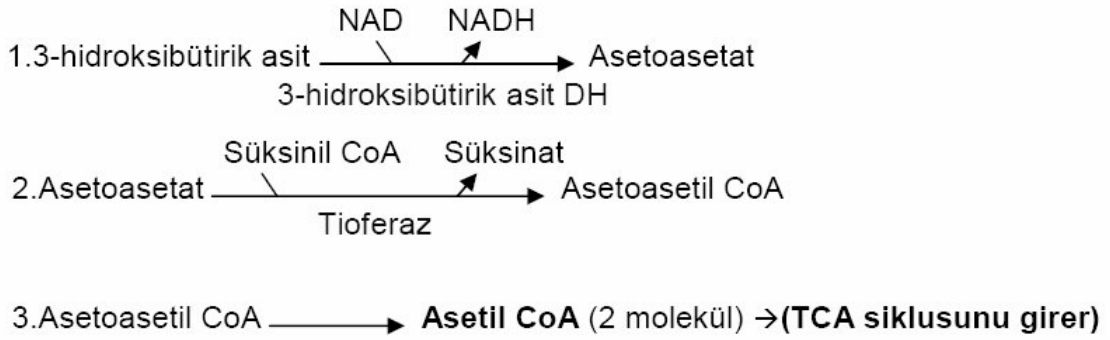
enzimi mitokondri boyunca Malonil KoA'yı normalde karnitin palmitoil transferaz 1'e (CPT 1) inhibe eder (Şekil 2.5).

### 2.1.5. Ketoliz

Ketoliz, çeşitli hücre içi metabolik etkinlikler için keton cisimlerinin enerjiye dönüştürülme işlemidir. Keton cisimleri karaciğerde sentezlendikten sonra difüzyon yolu ile kana geçerler ve birçok ekstra hepatik dokuda (kalp,iskelet kası ,böbrek,beyin) enerji kaynağı olarak kullanılır (Şekil 2.7). Normalde glikozu enerji kaynağı olarak kullanan beyin dokusu uzun süreli açlıkta, yeterli miktarda glikoz olmadığı durumda enerjisini  $\beta$ -hidroksibütirat ve asetoasetat'tan sağlayabilir.  $\beta$ -hidroksibütirat, ekstra hepatik dokularda D- $\beta$ -Hidroksibütirat dehidrojenaz vasıtasıyla asetoasetata okside edilir. Reaksiyon sırasında NADH oluşur. Asetoasetat da sitrat döngüsünün ara ürünü olan süksinil KoA'dan- KoA transferiyle asetoasetil KoA şeklinde aktive edilir ki reaksiyonu  $\beta$ -ketoaçıl-KoA transferaz enzimi katalize eder. Son olarak asetoasetil KoA'da tiyolaz vasıtasıyla 2 asetil KoA vermek üzere parçalanır.



**Şekil 2.7.** Keton cisimleri karaciğerde sentezlendikten sonra difüzyon yolu ile kana geçerler ve birçok ekstra hepatik dokuda (kalp, iskelet kası ,böbrek,beyin) enerji kaynağı olarak kullanılır. (web.firat.edu.tr/med/ders\_notlari/tiplketon.ppt)



**Şekil 2.8.** Keton cisimleri oluşumunda enzimler (11).

Ketoliz iki adımda gerçekleşir. Süksinil KoA-oksoasid transferaz (SCOT) enzimi tarafından AcAc'den asetoasetil KoA'nın yeniden yapılanması ve sonrasında metilasetoasetil KoA tiolaz (MAT) enzimi tarafından asetoasetil KoA formundan, asetil KoA formuna bir asetil grubunun ayrılmasıdır (Şekil 2.8).

İlk aşamadaki SCOT ketolysisde oranı belirleyen bir adımdır. Bu enzim aktivitesinin en yüksek olduğu organlar, kalp ve böbrektir, ardından merkezi sinir sistemi ve iskelet kası gelir (23). Aynı zamanda karaciğerde de mevcut olup, ancak çok düşük seviyelerde bulunur. Iskelet kası saf kitle olmasından dolayı bu doku dinlenme durumunda toplam keton cisimleri metabolizmasının en yüksek kısmını oluşturmaktadır. Ketolizis de ikinci kilit adımdan sorumlu enzim MAT'dır. Bu enzim ekstra hepatik dokularda acetoacetyl KoA'dan asetil KoA üretimini artırma eğilimi taşır. Karaciğerde MAT ketogenezisde önemli bir rol oynar. Bu enzim aynı zamanda acetoacetyl KoA , HMG KoA mitokondriyal sentaz (MHS) için substrat oluşturmaya yardımcı olur.

## 2.2. RUMİNANTLARDA AÇLIK KETOZİSİ

Yaklaşık 80 yıl önce erken dönem çalışmalarında ruminantların ketozise oldukça dirençli olduğu bildirilmiştir. Fakat bundan sonraki yapılan çalışmalarda belirli aralıklarla süt ineklerinde diyetin azaltılması ile dahi kanlarında keton cisimlerinin (aseton, aseto-asetik asit, beta hidroksi bütirik asit) arttığı bulunmuştur. İlk kez Carlstrom postpartum dönemde aç bırakılan ineklerde keton cisimlerinin idrar ile atıldığını kanıtlamışlardır. İleri gebe koyunlarda da açlık ketozisi oluşturulabilmiştir. Laktasyondaki ineklerde ketozis ve karaciğer yağlanması birbiri ile ilişkidir (24). Deneysel karaciğer yağlanmasını laktasyondaki keçilerde indükleyebilmişlerdir. Daha önceleri başka araştırmacılar da ruminantlar üzerindeki deneysel çalışmalarda bu protokolü

kullanmışlardır (25-27). Bu deney protokolünde, gıdanın orta derecede sınırlandırılmasına doğum sonrası 14. günde başlanmış ve bununla birlikte 1.3-butanediol (BD) keton cisimciği prokürsörü olarak yeme katılmıştır. Sonuçta 20 ile 35 güne kadar tedrici olarak klinik ve karaciğer yağlanması belirtileri oluşmuştur (26-28). Ruminantlarda deneysel olarak oluşturulan ketozis vakalarının, kendiliğinden gelişen klinik ketozisteki gibi kan parametrelerinde değişiklikler oluşturabildiği ve benzer klinik belirtilere de neden olduğu belirtilmektedir (29,30).

Sütçü inekler üzerinde yapılan çalışmalarda, biyokimyasal açıdan klinik ketozisin ve açlık ketozisinin arasında bir farkın olmadığı, ayrıca açlık ketozisinin klinik ketozis vakaları için bir model oluşturabileceği bildirilmiştir (25). Önceki çalışmalarda da açlığa maruz bırakılan ineklerin karaciğerlerindeki metabolit konsantrasyonları açısından kendiliğinden oluşan ketozisli inekler arasında istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir (29,31,32). Gaal ve ark. (38) gebe olmayan merinos koyunlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 3 gün aç bırakılan bu koyunların kan glikoz değerlerinde derhal ciddi bir azalma, plazma serbest yağ asitleri, total lipit, kolesterol, üre düzeyinde önemli artışların açlık periyodu süresince oluştuğunu rapor etmişlerdir. Benzer bulgular Ranaweera ve ark. (34) yaptıkları çalışmalarda da elde edilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarla besi sığırlarına 1.3-butanediol ve phlorizin verildikten sonra, kanlarındaki glikoz, keton cisimleri ve serbest yağ asitleri konsantrasyonlarının, ketozisin erken dönemlerindeki ineklerde oluşan değişiklere benzer olduğu belirlenmiştir (34,35).

Ayrıca ülkemizde, koyunlara phlorizin verilerek deneysel ketozis oluşturulabileceğini belirten çeşitli yayınlar da yapılmıştır (36,37). Aslan ve ark. (36) 100 mg/kg dozunda ve günde iki kez phlorizin solusyonu enjekte ederek deneysel olarak oluşturdukları ketozisli 5 adet Akkaraman ırkı koyunda serum SGOT, insulin, glikoz, Na, K düzeyleri, total protein konsantrasyonu, Hemoglobin ve ve hemotokrit değer, total lökosit sayılarını tesbit etmişlerdir. Phlorizin uygulamasının 12. günün de adı geçen değerlerde önemli değişiklikler tespit edilirken, hayvanların klinikman hastalandıkları, kan şekerinin normalin yarısına, insulin seviyesinin normalin 5 katına düştüğü, SGOT seviyesinin normalin iki katına çıktığı belirlenmiştir. Onikinci günde hayvanlardan rumen içeriği ve karaciğer biyopsi örnekleri alınmıştır. Rumen içeriğinde rumen protozoa sayısının azaldığı, alınan biopsi materyalinde ise karaciğer epitel hücrelerinde diffüz tarzda lipid

damlacıklarının toplandığı görülmüştür. Yukarıdaki bozulan değerlerin aynı koyunlara niasin verilmesiyle düzeltilebileceği gösterilmiştir.

Başoğlu ve ark. (37) ise phlorhizinle deneysel olarak oluşturulan ketozisin, plazma ve rumen sıvısı riboflavin ve niasin konsantrasyonlarına etkisini araştırmak amacıyla laktasyanda ve gebe olmayan koyunlarda deneme grubunda rumen sıvısının ortalama pH değerleri, protozoa ve bakteri sayıları ve plazma riboflavin konsantrasyonlarındaki değişiklikler önemli bulunmazken, plazma ve rumen sıvısı niasin konsantrasyonlarının deneme sonrasında önemli oranda düştüğü belirlenmiştir.

1.3-Butanediol ratlarda (38), domuzlarda (39), insanlarda ve sığırlarda (40, 41) kullanılmış olan kokusuz, renksiz bir glikoldür. Ruminantlara verilirse ketojenik etki oluşturur (42). Etçi sığırlardaki in vitro çalışmalar butanediolün karaciğerde okside edilerek BHB'ye dönüştüğünü ortaya koymuştur. Ayrıca besi sığırlarında yapılan başka bir çalışmada da aynı bulgular elde edilmiştir (42). Tate ve ark. (43) butanediolün ratların karaciğer sitozolünde alkol dehidrojenaz tarafından BHB ye dönüştüğünü belirlemişlerdir. Açlık ketozisi çalışmalarında kullanılan bir diğer madde de phlorizindir. Deneysel ketozis oluşturmak amacıyla çalışmalarda kullanılan Phlorizinin idrarda glikoz atılımına neden olduğu belirlenmiştir. Glikozüri tablosu glikozun renal tubuler reabsorbsiyonunun hem kompetatif hem de nonkompetatif inhibisyonu sonucunda oluşmaktadır (44, 45).

### **2.2.1.Açlık ketozisinde metabolik değişimler**

Aç bırakılan koyunlara phlorizin verildiği zaman hiperketonemiye yol açtığı belirlenmiştir (46). Bonner ve ark (42) ile Hess ve Young (40) inek ve besi sığırlarının butanediol ile beslenmesinin toplam kan keton konsantrasyonunu 3-10 kez arttırabildiği belirlemişlerdir (35,40). Phlorizin ve BD'ün karbonhidrat ve lipid metabolizmasını yönlendiren hormonlar üzerinde de hafif düzeyde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu uygulamalarla kontrole göre büyüme hormonu konsantrasyonunun ketotik ineklerdekine benzer şekilde azalma eğiliminde olduğu görülmüştür. Aynı zamanda glukagon konsantrasyonu da artma eğiliminde olduğu dikkati çekmiştir. Phlorizin yalnız başına insülin konsantrasyonunu azaltır. Hipoinsülinemi ketotik ineklerde hipoglisemi ile ilişkilendirilmiştir(35,47).

## 2.3. KOYUNLARDA GEBELİK TOKSEMİSİ

Ruminantlarda metabolik açlığa ve diğer faktörlere bağlı oluşabilecek en önemli metabolizma hastalıkları gebelik toksemisi (GT), protein enerji malnutrisyonu (PEM) ve ketozistir. Bu hastalıkların patofizyolojileri birbiri ile yüksek oranda benzerlikler gösterirken, gelişim mekanizmalarındaki eser düzeydeki ve dönemsel farklılıklar nedeniyle birbirlerinden ayrılabilirler (48,49).

### 2.3.1. Etiyoloji

Gebelik Toksemisi koyunlarda çoğunlukla yavru sayısının fazla olması veya yavrunun büyümesine bağlı gebeliğin son döneminde olduğu bildirilen metabolik bir bozukluktur (48-50). Gebelik toksemisi ve malnutrisyon birbiri ile çok yakından ilişkilidir. Malnutrisyonda hayvanın ihtiyacına uygun rasyonların verilmemesi gıda eksikliği ve/veya alınan gıdalardan yeterli oranda faydalanılamaması sonucunda oluşur. Gıdaların primer yetersizliği veya sekonder parazitizm ile sekonder kronik hastalıklara bağlı olarak oluşan anoreksi tablosu nedeniyle ortaya çıkar. Anoreksi tablosu ile birlikte metabolik hızda bir artış söz konusudur (48). Protein/enerji ihtiyacını artıran faktörler gebelikte son üç aylık döneme girilmesi, düşük ortam ısı, ıslak veya çamurlu kıl örtüsü, ıslak çamurlu araziler, internal/external parazitler ile kötü kaliteli kaba yem, uzun süren kış şartları ve kar yağışı, gıda maddeleri yetersizliği protein ve enerji alımını azaltan faktörlerin çoğunlukla gebe veya büyüyen hayvanlarda rumen hacminin azalmasına yol açması nedeniyle söz konusu olur. Çoğunlukla kötü bakım ve yönetim faktörlerinin yapıldığı işletmelerde ortaya çıkar. Kötü kaliteli kaba yem ve konsantre yemlerin verilmesi malnutrisyona neden olur. Yaşlı hayvanlarda diş bozuklukları ve sosyal davranışlar da Protein enerji malnutrisyonu'nun (PEM) hayvanlarda oluşmasına neden olur. Bireysel vakalarda etkilenen hayvanlar hayvan sahiplerine normal gelebilir. Bu durum hastalığın kronik olması nedeniyle yaygın bir bulgudur. Bu tip hayvanlarda vücut kondüsyonunun kaybı kostaların ve prosesus spinosusların üzerine elin konulması ve palpasyonu ile yağ ve kas kütlelerinin kaybı hissedilebilecektir (48). Yatalıklığa rağmen hayvanlar canlı ve uyanıktırlar. Hipotermi bulunabilir, Gastrointestinal kanal hipomotildir ve rumen katılaşmıştır. Son dönemlerde ishal de bulunabilir. Bu hastalığın tedavisinde, glikoz ve amino asit içeren IV sıvılar verilir. Yüksek kaliteli yonca samanı, yatmayan ve iyi bir iştaha sahip olan hayvanlar için yüksek kaliteli kaba yemlerle

beslemeye başlanmalı daha sonra kademeli olarak konsantre yemlerle beslemeye geçilmelidir. Rumen transfaunasyonu, antelmintikler gerekirse kullanılır (48, 49, 51).

### **2.3.2. Risk Faktörleri**

Geç gebelik, şişmanlık, ikiz veya büyük tekli gebelikler, GT için önemli risk faktörleridir. Ancak bütün ikiz gebeliklerde oluşmadığı gibi, tek kuzu taşıyanlarda da oluşabilmektedir. Ayrıca, sadece çok besili ve çoğul gebeliklerde görülmemektedir. Kötü sürü yönetimi, yetersiz besleme ve yoğun yağışların etkisi ile oldukça zayıf koyunlarda da bu hastalık görülmektedir. Bu nedenle bazı araştırmacılar hastalığın formları içerisinde “açlık gebelik toksemisi” kavramını ortaya koymuşlardır (51).

Ayrıca; dar ve kapalı alanlarda uzun süre kapalı bırakılma, gebelik döneminde ketojenik etkili silaj ile besleme, yaşlılık, ani yem değişiklikleri, rumen volümünde azalma gibi faktörler de diğer risk faktörleri arasında belirtilmektedir (49). Ani gıda değişimi gibi nedenlerle oluşan anoreksi veya açlık periyodları da önemli nedenlerdir. Gebelik döneminde beslenme planlarındaki kademeli geçişler önde gelen sebepleri oluşturur. Bu bozukluk kötü beslenen hayvanların bir bozukluğu değildir, fakat sıklıkla iyi besili ve son dönemlerde gıda tüketiminde bir azalma oluşan koyunların bir hastalığıdır (52).

### **2.3.3. Patogenezis**

Anoreksi ve açlık sonucunda bir hipoglisemi ve hiperketonemi tablosu oluşur. Klinik görüntü hipoglisemik ensefalopatiyi işaret eder. Son dönemlerde üremi gelişir ve durumu daha da kötüleştirir. Fırat ve Özpinar (53) dengeli rasyonla beslenen gebe koyunlarda GT gibi metabolik bozuklukların oluşmayacağını rapor etmişlerdir. Bu bozukluk entansif koyun yetiştiriciliği yapılan yerlerde görülmektedir. Mera koyunculuğunda genellikle görülmez. Ayrıca ani gıda değişimleri ile hava şartlarındaki değişikliklerde hastalığı tetikler. Bu problem birkaç hayvanda birkaç hafta süresince görülen bir sürü problemi olarak ta ortaya çıkabilir (54, 55). Sürülerdeki salgınlar rapor edilmiştir (56, 57). Ferris ve ark. (58) çevre şartlarının değiştirilmesi sonucu oluşturulan stres ve gıdanın azaltılması ile gebeliğin son döneminde gebelik toksemisini indükleyebilmişlerdir. Lacetera ve ark. (59) subklinik GT vakalarında immun sistemin de olumsuz yönde etkilendiğini, hücresel ve humoral bağışıklığın engellenebildiğini belirlemişlerdir.

### 2.3.4. Klinik görünüm

Klinik bulgular; sinirsel ve diğer bulgular şeklinde ikiye ayrılır. Sinirsel belirtiler dışında depresyon, ataksi ve inkoordinasyon tabloları da bulunabilir (58, 60). Diğer belirtiler ise koyunlarda konstipasyon, dış gıcırdatma, nefeste keton-aseton kokusudur. Son dönemlerde koyunlar yatar ve koma hali alırlar ve 4-7 gün içinde ölüme sürüklenirler. Jeffrey ve Higgins (61) koyunlarda doğal olarak oluşan Gebelik toksemisi vakalarında beyin lezyonları içerisinde astrositik nükleer şişme, hipertrofi proliferation, serebrokortikal nekroz, Purkinje hücre nekrozisi, serebral and serebellar sub-kortikal beyaz maddenin vakuolleşmesini belirlemişlerdir. Kuzulama dönemindeki koyunlar için güç doğumlar bir göstergedir. Gebe koyunlarda fötüsün ölmesi ve kokuşması sonucunda toksemi nedeniyle ölümler oluşabilir (62). Koyunlarda karaciğer fonksiyonları da oluşan lipidozis nedeniyle şekillenebilmektedir. Kronfeld ve Raggi (63) aç gebe koyunlar ile doğal gebelik toksemisi vakalarında karaciğerdeki nicotinamide koenzimlerinin azaldığını belirlemişlerdir. Wastney ve ark. (64) gebelik toksemisinin azalmış hepatik glukoneogenesis ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Etkilenen hayvanların büyük çoğunluğunun gebeliğin son 2 veya 3. haftalarında oldukları görülmektedir. Bir koyun sürüsünde salgınlar olduğu zaman morbiditenin % 5-20 arasında olduğu; bununla birlikte özellikle tedavi edilmeyen bireylerde mortalite oranlarının % 80' i aştığı ve önemli ekonomik kayıpların olduğu bildirilmektedir (65). Hastalığın ortaya çıkışı, fötüsün gelişimine bağlı olarak artan enerji ihtiyacını gebe koyunun tam anlamıyla karşılayamamasına bağlıdır. Gebeliğin sonlarına doğru büyüyen iki ve daha fazla kuzu taşıyan koyunlarda, tek kuzu taşıyanlardan daha yüksek Keton cisimleri ile düşük plazma glikoz ve insülin oranları rapor edilmiştir (55, 60, 66, 67). Hastalığın gelişiminde hiperketonemi ile birlikte bulunan hipokalseminin de etkili olduğu belirlenmiştir (68).

### 2.3.5. Tedavi

Standart tedavilerde etkilenen hayvanlara İV glikoz solusyonları ve oral propilen glikol verilmelidir. Kortikosteroidler de verilebilir. Düzelen hayvanlara takiben kaliteli lezzetli kolay sindirilen gıdaların verilmesi tavsiye edilmektedir. Ayrıca buzağı ishallerinde kullanılan oral rehidrasyon sıvılarının da tedavide etkili olduğu rapor edilmiştir (69). Hafif vakalarda trenbolone acetate ve propilen glikol tedavi edici bazı faydaları olduğu bildirilmiştir (70). Hastalığın tedavi planında, zorunlu durumlarda zaman kaybetmeden sezaryen operasyonu yapılmalıdır. Doğumun başlatılması ile tedaviden iyi sonuçlar

alındığı rapor edilmiştir (71). Fakat bu durum ekonomik olmadığı için çoğu zaman hayvan sahiplerince tercih edilmemektedir. Ayrıca tedavide rekombinant sığır somatotropininin etkili olabileceği de gösterilmiştir (72). Sezaryan olmaksızın medikal tedaviye güç yanıt alınmaktadır. Fakat gebelik toksemisinde operasyona rağmen bile tedavi şansı zayıftır (60).

Ayrıca sığır ketozisine göre, koyunlarda bu uygulanan tedavi stratejilerine neden çok iyi cevap alınamadığı sorusunu açıklamanın da güç olduğu ifade edilmektedir (73-74).

### **2.3.6. Korunma**

Korunma amacıyla, sürüler dinlenme esnasında erken klinik belirtiler için mutlaka muayene edilmelidir. Şüphelenilen hayvanlara propilen glikol oral verilir. İlave besinlerle karbonhidrat kaynağı arttırılmalıdır. Gebeliğin son iki ayı süresince beslenmeye dikkat edilir. Aşırı yağlanmadan kaçınılmalıdır. Ani gıda değişimi ve stres faktörlerinden kaçınılmalıdır. Metabolik problemlerin azaltılması için egzersiz de tavsiye edilebilir (75).

### **2.3.7. Projenin hipotezi**

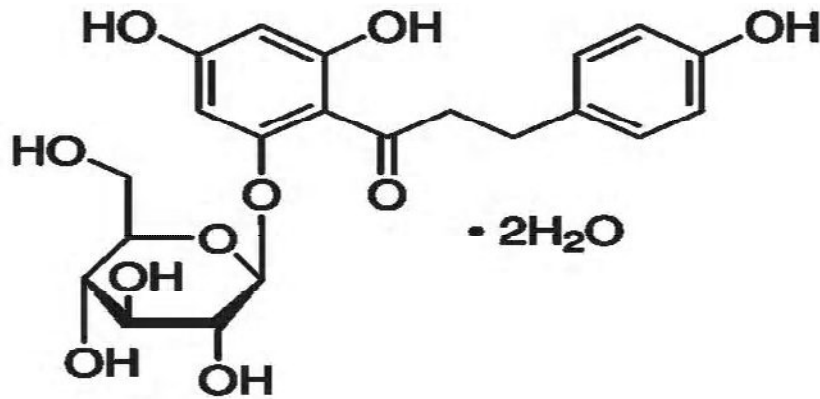
Yukarıda bahsedildiği gibi ruminantlardaki bu tip metabolik hastalıkların (Gebelik Toksemisi, Ketozis, Protein Enerji Malnutrisyonu) ilk tedavisinde amaç acil enerji ihtiyacının sağlanmasıdır. Bu nedenle hayvanlara damar içi yoğun glikoz veya dekstroz içeren solusyonlar verilir. Bu tedaviler çoğunlukla diğer uygulamalarla (Glukokortikoid, İnsülin, oral propylen glikol gibi) birleştirilmektedir. Ruminantlardaki bu tarz hastalıklar daha çok hem lipid hem de karbonhidrat metabolizmalarının bir bozukluğu olduğu için ruminant metabolizma hastalıklarında vücut rezervlerinin tek yönlü etkilenmesi her zaman mümkün değildir. Dolayısıyla açlığa maruz bırakılan ve phlorizin enjekte edilen koyunların, hem karaciğer yağlanmasının durdurulması hem de bozulan katabolik faaliyetlerinin onarılması düşüncesiyle TPLE kullanılması hipotezi bu proje ile araştırılmıştır. İnsanlarda Normal Glikozütilizasyon hızı 0.4 - 1.2 mg/kg/dk'dır. Ağır streslerde ise 5-7 mg/kg/dk'ya çıkar (76). Glikoz 7 mg/kg/dk üzerinde insülin ile verilse bile glikoz oksidasyonu yerine lipogenez olur veya glikoz klirensini arttırır (77,78). Lipogenez oluşumu ile birlikte CO<sub>2</sub> üretimi artar, eğer solunum fonksiyonu bozursa CO<sub>2</sub> retansiyonu olabilir. Bunun yanı sıra sepsiste glikoz kullanımı insülin direnci nedeniyle bozulmuştur ve karbonhidratların yüksek oranda kullanımı karaciğerde yağlanma yapabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı total parenteral

beslenmede yağlar, eskiye oranla daha yüksek miktarlarda kullanılmaktadırlar. Pratikte günlük kaloringin %50'si karbonhidrat, %50'si lipid olarak verilir. Hastanın klinik durumuna göre  $\pm$  %20'ye varan oranda ayarlama yapılabilir. Ağır hastalıklar sırasındaki katabolik durumlarda oluşan endokrin bozukluklar ve insülin rezistansı nedeniyle glikoz toleransında azalma görülebilir. Bu nedenle katabolik durumlarda parenteral beslenme uygulanırken, verilen glikoz miktarı yavaş arttırılmalıdır. Glikoz toleransının normal gibi görüldüğü durumlarda fazla glikoz verilmesi, hipermetabolik durumu, ateşi ve artmış  $\text{CO}_2$  üretimini devam ettirebilir. Organizmadaki kalorik ihtiyaçlar çok fazla değilse; dekstroza parenteral beslenmede tek enerji substratı olarak kullanılabilir. Ağır katabolik durumlarda ise hipermetabolik komplikasyonlardan kaçınmak için kalorik ihtiyacın %30-50'si yağ olarak sağlanmalıdır (78).

#### 2.4. PHLORIZİN

Phlorizin elma, armut ve diğer bazı meyve ağaçlarının kök ve gövdelerinde oluşan acı kristalize bir alkaloiddir. Normoglisemili canlılarda glikozüri meydana getirebilir. Phlorizinin bir ferment zehiri olduğu ve tubuluslarda glikozun reabsorpsiyonu için gerekli fosforilasyon olaylarını durdurmak suretiyle etki yaptığı kabul edilmektedir. Renal tubuler glikoz geri emilim inhibitörü olan phlorizin kan glikoz, adrenal medulla POMC, mRNA ve b-endorfin düzeylerinin düşmesine sebep olmuştur (79).

Phlorizin 150 yılı aşkın süredir kullanılan farmasötik bir madde ve fizyolojik bir araştırma aracıdır. Kimyasal Formülü:  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Şekil 2.9), Moleküler Ağırlığı: 472.44, HPLC ile belirlenen saflık oranı > 99% olan, beyaz görünümli, kristalize bir katı maddedir.



Şekil 2.9. Phlorizinin kimyasal yapısı

#### 2.4.1. Diabetes mellitus açısından phlorizin geçmişi

Phlorizin (Glikoz, 1 - (2 - (beta.D-glikopiranoziloksi) -4,6-dihidroksifenil) -3 -(4-hidroksifenil)-1-propanon) organik chalcone sınıfının bir üyesidir. Bileşikleri; bir glikoz parçası ve bir alkil boşluk tarafından birleştirilmiş iki aromatik halkadan oluşur. Phlorizin 1835 yılında, Fransız kimyagerler tarafından elma ağacı kabuğundan izole edilmiştir. Sıtmanın tedavisinde kullanılan söğüt ve kınakına ağacı özünün acı tadının phlorizinle aynı olduğu bulunmuştur. Bu sebeple phlorizinin ateşli, enfeksiyon hastalıklarda özellikle sıtmanın tedavisinde antipiretik özelliğinin yararlı olduğu sanılmıştır. Phlorizin, The Merck Index'in 1887 yılı listesinde "Glycosid aus der Wurzelrinde des Apfelbaumes" (*elma ağacının kabuğundan elde edilen glikozid*) olarak ifade edilmektedir (79, 80).

Von Mering tarafından 1886 yılında yapılan bir gözleminde phlorizinin 1.0 g dan büyük dozunun Glikozüri meydana getirdiği Merck'in daha sonraki baskılarında kaydedildi. Phlorizin alımında glikozüri üretiminin gözlenmesiyle eş zamanlı olarak diyabet böbreğin yapısal bir hastalığı olarak kabul edildi. Poliüri ve idrarda şekerin süreli olarak atılması phlorizin sayesinde gerçekleşti. Diyabetes mellitus ve phlorizinin idrardaki etkisi arasındaki benzerlik üzerine araştırmacılar tarafından araştırmacılar tarafından yapılan gözlemler bu yönde genişletildi. Phlorizinin köpeklerde uygulanmasından sonra sadece glikozüri değil aynı zaman da poliüri ve kilo kaybı da meydana getirdiğini kaydedildi (80,81).

Diyabet bulguları izlenimi veren ve doğal olarak ortaya çıkan hastalıkta insan ve hayvan eşdeğer gösterilmiş ve phlorizin verilmesi önerilmiştir. Von Mering'in gözleminin temelinde cantharidin ve chromate'la yapay nefrit oluşturulan tavşanlarda phlorizinin renal etkilerini göstermek ve phlorizin'e karşı duyarlılığın kısmen veya tamamen ortadan kaldırılmasını sağlamak yatmaktaydı (82). Phlorizinin glikozüriyi ne şekilde ürettiği bulunmadıkça phlorizin varlığı böbrekler için ses getirmeyecekti (83). Phlorizin'in 1930 'larda normal insanlarda intra venöz uygulamasında glikozüri meydana gelmesi için Homer Smith glomeruler filtrasyon hızı ve renal kan akımını ölçmek amacıyla noninvaziv arındırma yöntemleri geliştirdi. Smith'in çalışmaları phlorizinle yapılan böbreklerden glikozun atılımı, renal hemodinami ve tubüller tarafından metabolik taşıma gibi böbrekle ilgili temel kavramların gelişimine katkıda bulundu. Onun çalışmaları aynı zamanda phlorizinin insanlara güvenli bir şekilde

damardan verilebileceğini göstermiştir (84). Daha sonra Laveen 1970'lerde phlorizinin insanlara intravenöz olarak güvenle verilebileceğini doğrulamıştır. Laveen deneysel çalışmalarında malign hastalıkların tedavisinde tümör hücreleri tarafından glikoz alımını engellemek için phlorizini kullanmıştır. Phlorizinin 1950'lerde, etki mekanizması ile ilgili çalışmalar, hücrel ve moleküler etkileri üzerine yoğunlaşmaya başladı (84). Öncelikle phlorizinin yüksek konsantrasyonlarının ( $10^{-4}$ - $10^{-3}$  M) aerobik metabolizmayı inhibe ettiği ve mitokondrial şişmeye neden olduğu düşük konsantrasyonlarının ( $10^{-4}$  -  $10^{-6}$  M) ise glikozun eritrosit içine girişini, barsaklardan ve böbreklerden glikoz transpotunu engellediği belirlenmiştir (85,86). Phlorizinin böbreklerdeki renal aktivitesi üzerine yapılan araştırmaların çoğunda, glikozun aktif transport sisteminde proksimal tubül hücrelerindeki (brush border) luminal membranın renal reabsorbsiyonundan sorumlu olduğu tanımlandı. Phlorizinin bağlanma affinitesinin glikozun bağlanma affinitesinin 1000-3000 katı olduğu da ortaya konulmuştur (87).

#### **2.4.2. Phlorizin ve hücrel Glikoz taşıma**

Glikoz bir polar bileşik olduğu için, aktif transportta glikoz taşınmasında yağdan zengin hücre membranlarının taşıyıcı proteinlerle membran ilişkisi olması gerekir. Glikoz taşıyıcıları sodyum-bağlantılı glikoz taşıyıcıları (SGLT) ve kolaylaştırıcı glikoz taşıyıcıları (GLUT) olarak iki sınıfa ayrılır (88,89). Sodyum bağlantılı glikoz taşımalarının konsantrasyon eğiminde hücre membranı boyunca şeker transportu “artarken” sodyum transportu “azalır”. Rat böbreğinden iki SGLT isoformu klonlanmıştır (SGLT1 ve SGLT2 ) (90-92). SGLT1 transportta 2 glikoz molekülüne bir sodyum iyonu SGLT2 transportta ise her bir glikoz molekülüne bir sodyum iyonu bağlanmıştır (93). SGLT1 öncelikle ince barsak hücrelerinde ve renal tubül epiteline yer alır. Tavşan ve ratlarda proksimal tubülün inen düz kısmını döşeyen bölgededir. Fakat insan böbreklerinde bu gösterilememiştir (94). Glikoz sodyum transportunda SGLT2 nin düşük affiniteye sahip olduğu sadece kıvrık renal tubül hattında apikal hücre epiteline etki ettiği bulunmuştur (95). Phlorizin özellikle hem SGLT1 hem de SGLT2 yi rekabetçi bir şekilde inhibe ederek etkinliğini gösterir (96). Phlorizinin bu taşıyıcılar üzerinde kolaylaştırıcı etkisi yoktur (97). Phlorizinin membran şeker transportunu inhibisyon mekanizmasıyla ilgili yapılan çalışmalarda sodyum glikoz mekanizmasının tanımlanması sağlanmıştır (92). İnsan ince bağırsaklarında fırçamsı kenar hücrelerinde bulunan sodyum-glikoz iç

membran proteini reseptör olarak değişikliğe uğrarken kateşolamin kaynaklı fosforilasyon yoluyla phlorizin ile bağlanma artar (98). Sıçanlarda SGLT1 kolangiositler içinde (99) ve bazı kuş türlerinde de kolon epitelinde diyet sodyum miktarı ile düzenlenir (100). İnsanlarda SGLT1, 664 amino asit proteini ile 14 transmembran boşluğundan oluşur (101). Çeşitli dokularda da bulunduğu gösterilen genin amino asit dizilimleri SGLT1'in bir tek kopya geni olduğu gerçeğini yansıtır. Sıçan SGLT1'i, insan SGLT1'i ile % 86 homoloji gösterirken tavşan SGLT1'i % 93 homoloji göstermektedir (102). İnsan da bağırsak SGLT1 'ini kodlayan genin 22q11.2 veya 22q13.1 kromozomunun lokalize olması kullanılan yöntemle bağlıdır (103,104). SGLT2 sentromere yakın olan kromozom 16 üzerinde yer almaktadır. (105). SGLT1 hem glikozu hem de galaktozu taşır ki SGLT1'in aksine SGLT2 sadece glikozu taşır (93).

#### **2.4.3. Bir Medikal Botanik: Phlorizin**

Phlorizin temelde bir fenolik-glukozid olup elma ağaçlarının kök kabuğunda, sürgünler ve yapraklarında bulunur (104). Deneysel kanıtlar göstermiştir ki phlorizin elma ağacı fizyolojisinde bir takım rollere sahiptir. Elma ağacının büyümesini ve gelişmesini düzenleyici (105,106) aglucon floretin gibi fungusit (fitoaleksin) olarak rol alır (107). Doğal dimerize oksidasyon ürünü olarak meydana gelen phlorizin elma sularının ve elma sirkesinin büyük bir oranını oluşturur (108). Phlorizin aynı zamanda belirli konsantrasyonlarda elma şarabında karakteristik olarak ortaya çıkan tada da katkıda bulunur (109). Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile elma suyu (110) ve elmanın phlorizin içerdiği gösterilmiştir. Elma meyve özü 4-20 mg/kg, içerirken, elma kabukları, 12-418 mg/kg phlorizin içerir. Golden Delicious çeşidi en düşük konsantrasyonda phlorizin ihtiva etmekle birlikte, Reineta Green çeşidi en yüksek konsantrasyonda phlorizin ihtiva eder. Bu gözlemler phlorizin insan beslenmesinde doğal bir bileşen olduğunu göstermektedir. Böyle phlorizin gibi kalkonlar dahil flavonoidler, tüm bitki aileleri tarafından üretilen metabolitlerdir. Elma, çay, kırmızı şarap ve soğan flavonoidlerin başlıca kaynaklarıdır (111). Epidemiyolojik gözlemler, flavonoid tüketiminin koroner arter hastalığı yaygınlığı ile ters orantılı değiştiğini göstermektedir. Bu gözlemler sonucunda yapılan bir takım çalışmalar phlorizinin bu durumdan sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Phlorizinin 17- $\beta$  östrojen göre lipid peroksidasyonunun daha güçlü bir inhibitörü olduğu da gösterilmiştir. Elma suyu ve elma özlerinin, toplamında % 11-36 kadar phlorizin içeren fenolik konsantrasyonu, düşük dansiteli

lipoprotein oksidasyonu inhibe eder. Ayrıca floretin (phlorizin'in aglukonu), organ banyolarında, izole koroner arter halkalarında endotelden bağımsız bir gevşeme ürettiği belirtilmektedir (112).

#### **2.4.4. Phlorizin farmakolojisi**

Phlorizin ile yapılan deneysel çalışmalar genellikle diyabet üzerine yoğunlaşmıştır. Başlı başına insülin direnci gelişen hastalardaki hiperglisemi glikoz toksisitesine yol açar. İndüklenen glikoz ile diyabete duyarsızlaştırmanın bu glikoz toksisitesi ile olduğunu ilk olarak Rossetti ve ark 1987 yılında gösterdi (113).

Sadece kan şeker düşürücüleri ile kişinin kendi insülin duyarlılığını arttırması mümkündür. İşte bu durum phlorizin verilmesi ile gerçekleştirilir. Phlorizinle insülin duyarlılığını arttırmanın mümkün olduğu ve basitçe kan şekerinin düşürülebileceği gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar tarafından kısmi pankreatektomi ile daha önceden tedavi edilmiş ratlarda renal glikoz rezorpsiyonunu engellemek için phlorizin kullanımının diyabetik hayvanlarda insülin duyarlılığını normalize ettiği gösterilmiştir (114,115). Bu araştırmacılar tarafından daha sonra yürütülen araştırmalarda diyabetik sıçanlarda kan şekerinin normalize edilmesinin adipoz hücre glikoz taşıyıcıları ya da zar konsantrasyonu değişmeden meydana geldiği doğrulandı (116). İnsülin direnç mekanizmaları ile ilgili daha sonraki bir dizi çalışmada hiperglisemi etkilerini kontrol etmek için başlı başına bir yol olarak deneysel amaçlı phlorizin kullanılmıştır (117-121).

Gözlemler bağırsak glikoz emilimini geciktirerek örneğin akarbozun kan şekerindeki glisemik artışı baskıladığını göstermiştir. Akarboz bir alfa-Glikozidaz inhibitörü olup tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan anti-diyabetik bir ilaçtır. Avrupa ülkelerinde ve Türkiye'de Glukobay® (Bayer AG), Kuzey Amerika ülkelerinde Precose® (Bayer Pharmaceuticals) ve Kanada'da Prandase® (Bayer AG) ticari isimleri ile satılmaktadır. Alfa-Glikozidaz büyük karbohidrat moleküllerini parçalayarak glikozu açığa çıkaran bir enzimdir. Akarboz, karbonhidratların sindirilmesi için gerekli olan glikozit hidrolaz enzimlerini inhibe eder. Özellikle ince bağırsakların iç yüzeyinde bulunan fırçamsı kenar enzimleri ve pankreastan salgılanan alfa amilaz enzimlerini inhibe eder. Pankreastan salgılanan alfa amilaz enzimi ince bağırsak lümeninde kompleks nişastaları oligosakkaritlere parçalar. Alfa-Glikozidaz enzimi ise yine ince bağırsaklarda bu oligosakkaritleri, trisakkarit, disakkarit ve sonuçta glikoz ve öteki monosakkaritlere parçalar. Bu enzimlerin inhibe edilmeleri karmaşık karbohidratların sindirimlerini büyük

ölçüde azaltır. Bu sayede dolaşıma giden glikoz miktarı azalır çünkü besinle alınan karbohidratlar glikoz moleküllerine yıkılamazlar. Diyabetik hastalarda bu ilaçların kullanılması, kısa zaman dilimleri için kan glikoz seviyesinin düşmesine (özellikle tokluk kan şekeri değerlerinin), uzun zaman zarfında ise hemogloblin A<sub>1c</sub> seviyesinin hafifçe azalmasına neden olur. Akarboz diyabetik hastalarda kullanılan oral hipoglisemik ilaçların (sülfonilüreler, insülin ya da metformin gibi) etkinlikleri arttırmak amacıyla genellikle bu ilaçlarla kombine halde kullanılır. Akarboz kompleks karbohidratların glikoza yıkımını engellediği için bu karbohidratlar sindirilmeden bağırsakta kalırlar. Kalın bağırsakta bulunan bakteriler bu karbohidratları sindirebilir ve sonuçta hastaların yaklaşık % 78'inde çeşitli gaz sorunları ve şişkinlik hissi ile %14'ünde ise diyare görülmesi akarbozun doza bağımlı olarak ortaya çıkan yan etkileridir.

Eğer akarboz kullanan bir hasta hipoglisemi nöbeti geçirirse, hasta mutlaka glikoz tableti gibi monosakkarit içeren bir şeyler tüketmelidir. Akarboz kompleks karbohidratların sindirimini engellediği için nişastalı gıdalar etkin olarak glikoza dönüştürülemeyeceği için hipoglisemi nöbetinde etkisiz kalacaklardır.

Japon araştırmacılar farelere oral yolla verilen phlorizinin glikoz solüsyonunun alımını takiben kan şekerindeki artışı baskıladığını 1997 yılında göstermiştir. (121). Glikoz metabolizması üzerindeki etkilerine ek olarak, phlorizinin merkezi sinir sistemin üzerine de çeşitli etkileri bildirilmiştir. Phlorizinin glikozu beyin içine alımını bloke ettiği fakat mekanizmasının tam olarak bilinmemesine rağmen, kan beyin bariyeri gibi sodyum-glikoz taşıma yöntemini kullanmadığı belirlenmiştir (121,122). Glikoz mekanizmasıyla ilgili yapılan invitro çalışmalar ventromedial hipotalamustaki glikoza duyarlı nöronlar glikoz phlorizin hassasiyeti göstermiştir. Ventromedial hipotalamik beyin dilimlerini 5 ile 20 nmol / L glikoz yükselmesine maruz kalması ventromedial hipotalamik nöronları % 17 oranında aktive eder. Bu aktivasyonun inkübasyonu orta ölçekli phlorizin ilavesi ile engellendiği gözlenmiştir (122).

#### **2.4.5.Phlorizin Toksikolojisi**

Glikozürinin toksik etkileri temsil ettiği düşünüldüğü için phlorizin geleneksel toksik bir bileşik olarak etiketlendi. Kronik phlorizin uygulamasının böbreklerde hipertrofiye neden olduğu bildirilmiştir (123). Streptozotosin uygulanarak diyabet oluşturulan ratlarda phlorizin uygulanarak yapılan çalışmalar da phlorizinin proksimal kıvrık tubül

içinde pikomolar (bir molün trilyonda biri) miktarda sadece nefron glomeruler filtrasyon hızını etkilediğini göstermektedir. Phlorizin sıvının kısmi reabsorbsiyonunu azaltır ve distal tubülüs başlarında Na, Cl ve K iyon konsantrasyonlarını artırır (124).

#### **2.4.6. Renal glikozüri**

Phlorizinin farmakolojik etkileri primer renal glikozürinin klinik tablosuna benzeyebilir. Normal kan şekeri düzeyleri ile seyreden glikozüri, primer renal glikozüri, çeşitli renal tubül ve içsel renal hastalıkların sonucu olabilir. Gebelik, kafa travması ve serebrovasküler hastalıklar nedeni ile de glikozüri ortaya çıkabilir (125). Primer böbrek glikozürisi, otozomal dominant genlerle aktarılabilir. 24 saatte 50 g glikoz kaybına rağmen asemptomatik hastaların hayatı boyunca renal fonksiyonları normal kalır (126). Böbrek glikozürisi için teşhis kriterleri: (i) Hiperglisemi yokluğunda glikozüri, (ii) gebelikte artış gözlenmesine rağmen glikozüri düzeyleri sabit kalır, (iii) glikozüri miktarı emilen karbonhidrat miktarına bağlı olarak değişir, (iv) kan şekeri seviyesi, glikoz toleransı, plazma insülin ve serbest yağ asiti seviyesi etkilenmez, (v) sadece glikoz atılır ve (vi) etkilenen bireylerde genellikle glikozüri düzeyi sabit kalır (127,128).

#### **2.4.7. Phlorizinin Gelecekte Kullanım Alanları**

Phlorizinin 1835 yılında keşfedilmesinden bu yana deneysel, tıp ve biyoloji gibi çeşitli amaçlar için Phlorizin kullanılmıştır. Phlorizinin kullanım prensibi insülin den bağımsız plazma glikoz konsantrasyonunu düşürebilmesi çerçevesindeydi. Phlorizinin eşsiz farmakolojik özellikleri, insanların güvenli yönetimi kaydıyla insanlar için potansiyel bir “Doğal ilaç” olabilir. Tip 2 diyabetin tedavisine yönelik araştırma amaçlı kullanımları, obezitede kilo kaybı aracı ve hiper gliseminin tedavisinde phlorizin yardımcı madde potansiyeli taşımaktadır. Phlorizinin kabiliyeti glikotoksisiteyi tersine çevirmek, tip 2 diyabette kilo yapmadan kan şekerini düşürmek. İntestinal glikoz emilimi ve renal glikoz resorbsiyonunu engelleme özelliği sonucunda kalori kaybı ve kilo kaybına neden olarak obezlerde muhtemelen potansiyel bir tedavi şekli olabilir. Hipoglisemi ile bağlantılı hastada sıvı retensiyonu yapma ve risksiz bir şekilde kan şekerini düşürme kabiliyeti akut hastalıkla ilişkili stres hiperglisemisinde tedavi için etkili bir alternatif olabilir. Phlorizin ilk olarak sıtmanın (malaria) tedavisinde bir yöntem olarak kullanılmasına rağmen, antimalarial etkisinin üzerindeki moleküler temelini belirlemek 150 yıl sürdü. Yeni problemler incelendikçe ve yeni teknikler geliştikçe phlorizin T-1095 yeni bağlamlarda ve uygulamalarda kullanılmaya devam edilecektir. Phlorizin kullanımı

klirik gözlem için temel sayılabilir. ” bir gün elma doktoru senden uzak tutabilir” sözü günümüzde sıkça söylenmektedir (79).

## **2.5. PARENTERAL LİPİT EMÜLSİYONLARI VE KULLANIM ALANLARI**

Parenteral lipit emülsiyonları, insan hekimliğindeki kadar veteriner alanda kullanımı yaygın değildir. Besinlerin parenteral yolla verilerek gıda desteğinin sağlanması 30 yıldan daha uzun bir süredir insanlarda yoğun olarak kullanılmaktadır (129).

Son zamanlarda at hekimliğinde de kullanım alanı bulmuştur. Malnutrisyonun zararlı etkileri dikkate alındığında parenteral besinler hastalığın gelişimini pozitif olarak etkileyebilirler. Özellikle, kritik hasta veya kalori ihtiyaçlarını karşılamak için yeterli oranda geçici olarak yem alamayan veya alınan yemi değerlendiremeyen atlar için enerji ve besin temininde değerli bir yardımcı olarak tavsiye edilmektedir (130,131).

Bu solusyonların bir tedavi seçeneği olmasının çeşitli koşulları vardır. Atlar faringeal veya nörolojik disfonksiyon, özofageal obstrüksiyon, travma, ya da bu bölgeyi kaplayan kitleler nedeniyle yem alamayabilirler. Yem alımı mümkün olabilir, fakat sindirim sisteminde bazen gıda intoleransı söz konusu olabilir. Bu durum, ciddi paralitik veya adinamik ileus, anterior enterit, post-operatif kolikler, enterokolit veya neonatal sepsis gibi gastrointestinal sistem hastalıklarını içerir. Ayrıca yangılı barsak hastalığı olan atlar veya şiddetli ishal gibi hallerde de yem alımı mümkün değildir. Parenteral beslemenin amacı, büyümeyi sağlamak amacıyla kalori ve besin temini için değil; vücudu katabolizma ve malnutrisyondan korumak içindir. Parenteral besleme iyileşme için enerji sağlamak amacıyla anorektik hayvanları desteklemek adına yapılan bir önlem olarak kabul edilmelidir (132,133).

At hekimliğinde enteral beslemelerin ekipman maliyeti nedeniyle parenteral beslenme yetişkinlerde göre taylorlarda çok daha sık kullanılır. Anorektik taylorlar hızla vücut ağırlıklarını kaybedebilirler. Taylorlar hızlı bir katabolik duruma girmeden önce (genellikle hastalığın başlamasından sadece 24 saat sonra) parenteral beslemeye başlanmalıdır (134,135).

Lipid çözeltileri ya da emülsiyonları, genellikle emülsifiye ajan olarak kullanılan fosfolipidler, gliserin ve yumurta sarısı kullanılarak, yalancı safran yağı veya soya fasulyesinin kombinasyonlarından elde edilir. "Emülsiyon" terimi iki karışmayan sıvı içeren bir sıvı türü olup mayonezdeki su ve yağ karışımında olduğu gibi maddelerden

biri küçük kürecikler şeklinde askıda durur. Lipit emülsiyonları izotoniktir. Lipidler toplam kalorinin % 50'sinden fazlasını karşılamamalıdır, çünkü hayvanlarda hiperlipidemi oluşumu (midilli ve minyatür özellikle atların) ya da hastalık sürecinde (karaciğer hastalığı veya endotoksemi) bağışıklık fonksiyonunu baskılayabilirler (136,137).

Lipid Emülsiyonlarının avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir.

- a) Kalori kaynağı olarak, kalorinin az bir hacimde konsantre edilmesini amaçlar. Yağ emülsiyonlarının 100 gramı 1000 kalori sağlar. Böylece az sıvı hacmi içinde günlük kalori ihtiyacının %50'si sağlanabilir ve aşırı miktarlarda dekstroz verilmesine gerek kalmaz.
- b) Hiperosmolar dekstroz-elektrolit solüsyonlarıyla birlikte infüze edilerek total infüzyon osmolaritesinin ve tromboflebit eğiliminin azaltılmasını sağlar
- c) Aynı kalori sağlayan dekstroz solüsyonlarına göre daha az CO<sub>2</sub> üretimine neden olurlar
- d) Glikoz tek enerji kaynağı olarak kullanılırsa ve onun maksimum oksidasyon kapasitesi aşıldığı takdirde, karaciğerde yağ depoları oluşabilir. Bu avantajlar göz önüne alınarak açlık ketozisi ve deneysel negatif enerji dengesi oluşturulan koyunlarda TPLE'nin metabolik parametrelerin düzenlenmesi ve enerji açığının kapatılmasında daha faydalı olacağı düşünülmektedir (9,10).

Bunun yanı sıra lipid emülsiyonlarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır;

- a) Daha zor hazırlanmaları
- b) Tek başına dekstroz infüzyonunda görülmeyen ilave yan etkiler ve komplikasyonlara neden olmaları (9,10,82).

### **2.5.1. Lipid Emülsiyonlarının Komplikasyonları**

- a) Erken veya ani reaksiyonlar: Hastaların %1'indendaha azında görülür. Dispne, siyanoz, allerjik deri bulguları, bulantı, kusma, baş ve sırt ağrısı, flaşing, terleme, ateş baş dönmesi ve infüzyon yerinde lokal inflamasyon gibi bulgular ortaya çıkabilir. Hiperkoagülabilité ve trombositopeni de bildirilmiştir.

b) Gecikmiş reaksiyonlar: Hepatomegali, sarılık, splenomegali, trombositopeni, lökopeni ve karaciğer enzimlerinde hafif yükselme bulgularını içerir. Bazı hastalarda pulmoner diffüzyon kapasitesinde azalma gözlenmiştir

### **2.5.2. Lipid Emülsiyonuna Ait Reaksiyonlar**

a) Karaciğer fonksiyon bozukluğu: Transaminazlarda başlangıçta yükselme olabilir, fakat 20 günden fazla sürmemelidir. Alkalen fosfatazın uzun süre yüksek kalması birçok hastada görülmektedir.

b) Safra kesesi hastalıkları: Kolelityazis veya safra kesesi kumu uzun dönem total parenteral beslenen hastalarda sık görülmektedir. Safra kompozisyonunda değişme ve safra kesesi kontraksiyonlarının sıklığında azalma bundan sorumlu olabilir. Semptomatik hastalarda kolesistektomi gerekebilir.

c) Metabolik kemik hastalıkları: Total parenteral beslenme tedavisinde birkaç ay kalan hastalarda şiddetli periartiküler, alt ekstremiteler ve sırt ağrıları oluşmuştur. Sendromun patogeneğinde vitamin D metabolizmasındaki değişiklik sorumlu tutulmalıdır. Total parenteral beslenmenin geçici olarak kesilmesi semptomları düzeltir (138).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. GEREÇ**

##### **3.1.1. Araştırmada Kullanılan Hayvanlar**

Bu deneysel çalışma, Kayseri yöresinde bir işletmeden alınan gebelik ve laktasyon dönemlerinde olmayan koyunlar üzerinde, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesinde yürütüldü. Araştırmada toplam 18 adet gebelik ve laktasyon dönemlerini tamamlamış ortalama  $2.1 \pm 0.3$  yaşlarında, çiçek, enteretoksemi ve diğer aşıları ile iç ve dış antiparaziter uygulamaları yapılmış, ortalama ağırlıkları  $45.4 \pm 4.2$  kg olan, Akkaraman ırkı koyunlar kullanıldı. Bu koyunlar her grupta 6 koyun olacak şekilde rastgele örnekleme ile üç gruba ayrıldı. Çalışmanın deneme aşaması 60 gün sürdü.

Çalışmada ortalama canlı ağırlıkları arasında istatistiksel fark olmayan, yetiştiricilerin geleneksel usullerle yetiştirdikleri ve besledikleri koyunlar kullanıldı. Kulak numaraları kaydedilen koyunların yaptığımız klinik muayene ile tamamen sağlıklı oldukları belirlendi. Çalışmanın hayvan deneylerini içeren çalışma dönemi, 2011 yılı Haziran-Temmuz ayları arasında 2 aylık bir sürede tamamlandı. Materyallerin ve malzemelerin temin edilmesini takiben Veteriner Fakültesinde uygun çalışma bölümlerine koyunlar getirildi. Burada hayvanlar için metal profil ve beton malzemedan bölmeler oluşturuldu, uygun yemlik ve suluklardan koyunların yem ve su tüketmeleri sağlandı. Çalışma grupları üç grup şeklinde düzenlendi. Onbeş günlük adaptasyon döneminden sonraki

çalışma periyodu her grup için 15 gün olmak üzere toplam 45 gün olacak şekilde gerçekleştirildi.

Onbeş günlük adaptasyon döneminde koyunlar getirildikleri işletmedeki yemleme programına tabi tutuldular. Bu dönemden sonra gıda kısıtlaması ve phylorizin uygulamalarına başlandı. Bu süre içinde günlük kan ve idrar örnekleri alınarak klinik muayeneler yapıldı. Denemeye alınan koyunlarda tavır-davranış bozuklukları, kafada düşme, dönme hareketleri, yıldız sayma hareketleri, tremor, konvülsiyonlar, depresyon, ataksi ve inkoordinasyon gibi sinir sistemi belirtileri ile konstipasyon, dış gıcırdatma, nefeste keton-aseton kokusu gibi diğer klinik bulguların ortaya çıkıp çıkmadığı gözlemlendi. Klinik belirtilerin ortaya çıktığı dönemlerde de kan ve idrar örnekleri toplandı. İdrar örneklerinde keton cisimleri taraması yapıldı. Yapılan analizlerde hipoglisemi ve ketonürinin belirlenmesi ve klinik belirtilerin görülmesi ile tedaviye başlandı. Tedaviden sonraki saatlerde de klinik muayeneler kaydedilip örnekler toplandı. Buna göre serum biyokimyasal parametrelerinin analizleri için örnekleme zamanları phlorizin ve yem kısıtlamasından 24 saat önceki 0. saat ile sonraki 1.gün 2. saat, 2. gün, 3. Gün, 4. gün ve tedavi sonrası 4. gün 2. saat, 4. gün 6. saat, 5. gün, 6. gün ve 7. gün olarak düzenlendi. Total lökosit (WBC), total eritrosit (RBC) sayıları ile hemogloblin değerlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan hematolojik analizler için EDTA'lı kan örnekleri ve ise 0. saat, 1.gün, 2. saat, 2.gün, 3.gün, 4. gün, 5. gün, 6. gün ve 7.günlerde de idrar örnekleri toplandı.

### **3.1.2. Araştırmada Kullanılan Çalışma Grupları**

İlk 15 gün için bütün koyunlar 1.48 kg /baş/gün çayır otu tükettiler. Çayır otunun (% 89 KM) besin madde ve enerji içeriği bu fizyolojik aşamada olan koyunlar için yeterli görüldü. Tedavinin etkinliğini belirlemek amacıyla yaklaşık 10 ml kan örnekleri toplandı. Tüm hayvanların tedaviden sonraki klinik muayene parametreleri, tedaviye verilen olumlu ya da olumsuz cevaplar, hayatta kalma oranları, hazırlanan bir protokole kaydedildi. Tedavi gruplarında belirlenen örnekleme zamanlarına paralel olarak tedavinin gruplar arası farkını karşılaştırmak amacıyla kan örnekleri alındı. Kan örnekleri holder ve uygun iğne ile vakumlu tüplere toplandı. Serum örnekleri için boş cam tüpler kullanıldı. Kan örneklerini içeren tüpler oda ısısında pıhtılaşma için bekletildikten sonra  $2.050 \times g$  de  $20^{\circ}C$  de santrifüj işlemine tabi tutuldu. Serumlar analiz işlemlerine kadar  $-20^{\circ}C$  de derin dondurucuda saklandı.

Her gruptan denemenin başladığı 0. gün öncesinde bazal değerler için 2 gün kan örnekleri toplandı, bu örneklerden elde edilen serumlar sağlıklı hayvanlara ait değerler olarak kontrol amacıyla depolandı. Hayvanların sağlık durumlarının belirlendiği klinik muayene bulguları ayrıca kaydedildi. Bu hayvanların günlük yapılan kontrollerinde provake yolla elde edilen idrar örneklerinde idrar stripleri (deep-stick keton test) ile ketozis taramaları yapıldı.

Açlığa tabi tutulan ve phlorizin uygulanan koyunlara yapılan tedaviler ve buna göre oluşan gruplar aşağıdaki gibi oluşturuldu.

GRUP I. (n=6): Serum İzotonik verilen kontrol amacıyla kullanılan koyunlar,

GRUP II. (n=6): Serum Dekstroz verilen standart uygulama grubu,

GRUP III. (n=6): Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup.

**GRUP I. (n=6): Serum İzotonik (% 0.9 NaCl) Grubu (Kontrol grubu);**

Koyunlara ilk 4 gün  $\frac{1}{4}$  oranında azaltılmış kaba yem ve *adlibitum* su verildi. Bu besleme rejimi ile birlikte aynı günlerde deri altı 100 mg/kg dozunda Phylorizin enjeksiyonları da yapıldı (Şekil 3.1). İdrarda keton cisimlerinin belirginleştiği (Deep stick; artı üç), klinik belirtilerin olduğu günde (4. gün) birer defa % 0,9'luk serum izotonik İV 200 ml plasebo amaçlı verildi. Bu uygulamaya başlanması ile birlikte phlorizin enjeksiyonları durduruldu, fakat sınırlı beslemeye devam edildi. Tedaviden sonraki 2. saat, 6. saat, 5. gün, 6. gün ve 7. günlerde klinik muayeneler kaydedilip, kan örnekleri toplandı. Yedinci günden sonraki günlerde koyunlar dengeli rasyonla beslendiler.

**GRUP II. (n=6): Serum Dekstroz Grubu;**

İlk 4 gün  $\frac{1}{4}$  oranında azaltılmış kaba yem ve *adlibitum* su verildi. Bu besleme rejimi ile birlikte aynı günlerde deri altı 100 mg/kg Phylorizin enjeksiyonları da yapıldı. İdrarda keton cisimlerinin belirginleştiği (Deep stick; artı üç), klinik belirtilerin olduğu günde (4. gün) bir kez % 30'luk Dekstroz İV 200 ml tedavi amaçlı verildi. Tedaviye başlanması ile birlikte phlorizin enjeksiyonları kesildi, fakat sınırlı beslemeye devam edildi. Tedaviden sonraki 2. saat, 6. saat, 5. gün, 6. gün ve 7. günlerde klinik muayeneler kaydedilip, kan örnekleri toplandı. Yedinci günden sonraki günlerde koyunlar dengeli rasyonla beslendi.

**GRUP III. (n=6): Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) Grubu;**

İlk 4 gün  $\frac{1}{4}$  oranında azaltılmış kaba yem ve *adlibitum* su verildi. Bu besleme rejimi ile birlikte aynı günlerde deri altı 100 mg/kg Phylorizin enjeksiyonları bu gruba da yapıldı. Tüm gruplarda yaklaşık aynı oranlarda (++) idrarda keton cisimlerinin görüldüğü, klinik belirtilerin olduğu gün (4. gün) bir kez % 20'lik PLE (Lipovenöz veya Lipofundin) İV 200 ml tedavi amaçlı verildi (Şekil 3.2 ve 3.3). Tedaviye başlanması ile birlikte phlorizin enjeksiyonları kesildi fakat sınırlı beslemeye devam edildi. Tedaviden sonraki 2. saat, 6. saat, 5. gün, 6. gün ve 7. günlerde klinik muayeneler kaydedilip, kan örnekleri toplandı. Bundan sonraki günlerde koyunlar dengeli rasyonla beslendi.



Şekil 3.1. Deri altı phlorizin enjeksiyonu.



**Şekil 3.2.** Kulak venasına uygulanmış kateter ile TPLE'nun verilmesi



**Şekil 3.3.** TPLE'nun verilmesi esnasında genel görünüm.

### 3.1.3. Araştırmada Kullanılan Araç Gereç, Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Kan örneklerinin toplanması için holder ve uygun iğneler temin edildi. Serum ve plazma örnekleri için antikoagülanlı ve heparinli 10 ml'lik vakumlu tüpler kullanıldı. Dekstroz ve damar içi besleme solüsyonlarının verilmesi için uygun serum setleri ve intraketler kullanıldı. Toplanan kan örneklerinin işlenmesini takiben yapılan biyokimyasal analizler için ticari kitler ve ELISA plateleri kullanıldı.

**ELİSA testi kitleri:** Serum örneklerinde enzim aktivitelerini ve biyokimyasal parametreleri belirlemek için kullanılan, uygun reaktifleri içeren kitlerdir.

Non-Esterifiye Yağ Asitleri (NEFA):Wako (Almanya)

3-hidroksibütirat (3-HB): Autokit 3-HB, Wako (Almanya): Siklik enzimatik metod

#### **Ticari kolorimetrik kitler**

Aspartat Aminotransferaz GOT (AST): Spinreact, Kinetik (İspanya)

Kreatinin: Spinreact, Kinetik (İspanya)

Trigliserid: Spinreact , kolorimetrik, (İspanya)

Gamma Glutamil Transferaz (GGT): Spinreact, Kinetik, (İspanya)

Üre: Spinreact, Kinetik, (İspanya)

Glikoz: Spinreact , kolorimetrik, (İspanya)

Albumin: Spinreact, kolorimetrik, (İspanya)

Alkalın fosfataz (ALP): Chema Diagnostica, Kinetik, (İtalya)

Total Protein: Teco Diagnostics , kolorimetrik, (A.B.D.)

ELİSA 96 testlik Plate, Calbiotech, (A.B.D.)



**Şekil 3.4.** Çalışmada elde edilen serum örnekleri, mikropipet ve uçları

**ELISA okuyucusu (Multi Fonksiyonel Mikroplaka Okuyucu, Biotek, Synergy HT):** Aspartat Aminotransferaz (AST), Kreatinin, Trigliserid, Gama Glutamil Transferaz, Üre, Glikoz, Albumin, Alkalın Fosfataz, Total Protein, Non-Esterifiye Yağ Asidleri (NEFA), 3-hidroksibütirat (3-HB) parametrelerinin serumdaki konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla kullanılan ve Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan cihaz (Şekil 3.5 ve 3.6).



**Şekil 3.5.** Multi Fonksiyonel Mikroplaka Okuyucu, Biotek, Synergy HT, (A.B.D.)



**Şekil 3.6.** Multi Fonksiyonel Mikroplaka Okuyucu, Biotek, Synergy HT, (A.B.D.) ve monitör.

**2, 100, 200 ve 1000  $\mu$ l'lik Otomatik Pipetler ve Uygun Pipet Uçları:** ELİSA analizlerinde kullanıldı (Şekil 3.4).

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

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

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

**EDTA'lı Hemogram Tüpü:** Hematoloji (RBC, WBC, Hemoglobin) analizleri için kan örnekleri bu tüplere alınır. Bu tüplerin içerdiği öncelikli antikoagülan Etilendiamintetraasetat (EDTA)'dır. EDTA, kalsiyum iyonunu bağlayarak kanın pıhtılaşmasına engel olur.

**Santrifüj, Hettich Rotofix 32A Dijital Santrifüj (10 mlx20 Tüplük):** Antikoagulantsız kan örneklerinde serum çıkarılması için kullanılan santrifüj.

**İntraket:** Vena jugularis veya Vena auricularise uygulanan ve serum ve damar içi solusyonların verilmesi amacıyla kullanılan damar içi kateteri.

**Serum Seti:** Damar içi ilaçların verilmesi esnasında kullanılan malzemeler

**Dipstick (Cobas Roche):** İdrar analizi ve özellikle idrarda keton tayini için kullanılan klinik teşhis aracı.

**Phlorizin dihydrate (Sigma Aldrich, P3449-1G):** Koyunlarda glikozüri oluşturma vasıtasıyla açlık ketozisini indüklemek amacıyla kullanılan renal tubuler glikoz geri emilim inhibitörü (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7.** Phlorizin dihydrate, elma ağacı kabuğundan elde edildi.

**Serum Dekstroz (Dekstro Fleks):** % 30'luk serum dekstroz, açlık ketozisinin tedavisinde kullanıldı (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8.** % 30'luk Dekstroz solusyonu (Dekstro-fleks, 500 ml)

**Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) :** % 20'lik parenteral lipit emülsiyonu, açlık ketozisinin tedavisinde kullanıldı. İntravenöz beslenme için steril-apirojen 500 ml yağ emülsiyonunun 1000 ml'sinde; fraksiyone soya fasulyesi yağı (200 g), fraksiyone yumurta fosfolipidleri (12 g), gliserol (anhidr) (22.0 g) enjeksiyonluk su (toplam hacmi 1000 ml'ye tamamlayacak şekilde) bulunmaktadır.

Emülsiyonun pH'sı yaklaşık 8.0, Osmolalite: 350 mosm/kg su, Enerji: 2.0 kcal/ml (-8,4 kJ/ml) dir (Şekil 3.9).



**Şekil 3.9.** % 20'lik TPLE solusyonu (İntralipid %20)

**Serum Fizyolojik:** %0,9'luk serum fizyolojik, kontrol gruplarında TPLE ve Dekstrozun etkinliğini karşılaştırmak amacıyla kullanıldı.

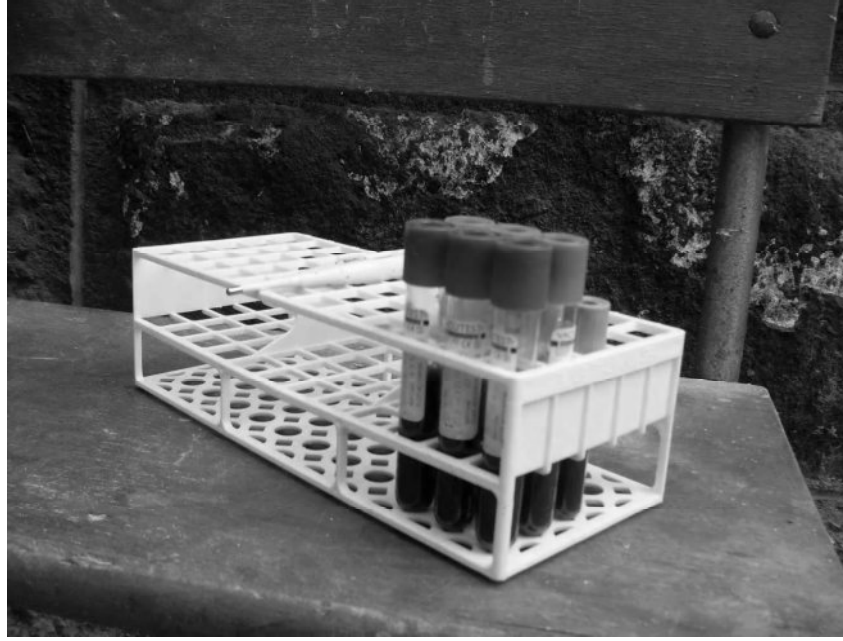
### 3.2. YÖNTEM

#### 3.2.1. Klinik Muayene

Tüm koyunların alınmasından itibaren ve deneme süresince örnekleme zamanlarında düzenli olarak genel klinik muayeneleri yapıldı. Klinik muayene amacıyla sürünün genel görünümü, hayvanlarda vücudun tutuluşu, kıl örtüsünün muayenesi, lenf yumrularının muayenesi, mukozaların muayenesi (ağız, konjunktiva, vajina) gerçekleştirildi. Vücut ısısı, kalp atım sayısı, solunum sayısı, rumen hareketleri sayısı ve kalp oskültasyon bulguları belirlendi. Tüm bulgular bir protokole kaydedildi. Tüm sistemlerin detaylı muayeneleri yapıldı. Hayvanlar bulundukları ortamda belirgin klinik bulguları fotoğraflandı.

#### 3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Hayvanların vena jugularisinden serum ALP, AST, Kreatinin, Glikoz, NEFA (Non-Esterifiye Yağ Asitleri), 3-HB, Total Protein, Albümin, Üre ve Triglicerid analizleri için vakumlu antikoagülsüz cam tüplere 8 cc, kan sayımı, WBC, RBC, Hemoglobin ve froti için EDTA'lı tüplere 4 cc holder ve uygun iğne yardımı ile kan örnekleri alındı.



**Şekil 3.10.** Kan örneklerini içeren tüpler.

### 3.2.4. Kan Örneklerinin İşlenmesi

Vakumlu antikoagülsüz tüplere alınan kan örnekleri 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Daha sonra örnekler enzim analizleri yapılana kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  de derin dondurucuda saklandı (Şekil 3.10).

### 3.2.5. Örnek Analizleri

Serum Aspartat Aminotransferaz (AST), kreatinin, trigliserid, gama glutamil transferaz üre, glikoz, albumin, alkaline phosphataz, total protein, esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA), 3-hidroksibütirat (3-HB) konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla uygun ticari kitler kullanılarak ve bu kitlerin prospektüslerindeki prosedürlere uyularak Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Laboratuvarında bulunan Biotek marka ELİSA okuyucusunda belirlendi.

### 3.2.6. İstatistik Analizler

Elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizleri SPSS 16.0 programında yapıldı. Verilerin öncelikle normal dağılıma sahip olup olmadıkları Kolmogrov-Smirnov testi ile belirlendi. Veriler normal dağılmadığı için Friedman testi uygulandı ve verilerin

istatiksel önemi “Tukey testi” aracılığıyla tespit edildi. Veriler tablolarda ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. KLİNİK MUAYENE BULGULARI

Yem kısıtlaması ve phlorizin uygulamasına bağı bütün gruplardaki koyunlarda bir takım semptomlar gözlemlendi. Bunlar erken ve geç gelişen semptomlar tarzında oluştu. İlk semptomlar; iştahta ve rumen hareketlerinde belirgin bir düşüş, dışkı miktarında azalma idi. Daha geç şekillenen semptomlar ise; sinirsel belirtiler tarzında idi. Bunlar; hipereksitasyon, diş gıcırdatma, pika, çiğneme hareketleri ve yemliğe saldırma gibi anormal davranışlardı. Lipit emülsiyonu 20 G intraketle vena auricularis'ten 6 saatte 200 ml verildi. Damar içi lipit solusyonu verilen koyunlarda ilk iki saat içinde inleme, yüz kaslarında, vücudun çeşitli bölümlerinde titremeler ve vücut ısıları 39-40 °C derece arası ölçüldü. Altıncı saat sonunda ise ateş 42 °C'ye yükseldi. Bununla birlikte tüm grupların örnekleme zamanlarında kalp atım ve solunum sayılarında anlamlı oranda değişiklikler gözlenmedi. Ateş yüksek olmasına rağmen iştah, yem yeme isteği normaldi. Dördüncü gün itibariyle tüm gruplarda damar içi uygulamalara başlandıktan sonra dekstroz ve serum fizyolojik verilen koyunlarda yukarıdaki klinik belirtilerde düzelme olmamasına rağmen, TPLE verilen koyunlarda merkezi sinir sistemi belirtileri ve diğer belirtiler ile birlikte bu grupta gözlenen yan etkiler de gözlenmedi (Tablo 4.1). Lipit emülsiyonu verilen koyunların 2. saat kanları lipemikti. Deneme başında ortalama ağırlıkları 45.4±4.2 kg olan koyunların tüm gruplarda benzer oranlarda zayıfladıkları

görüldü. Üç grubun ortalama ağırlığı  $39.4 \pm 5.1$  kg belirlendi. Bu azalma istatistiksel açıdan önemli oranda farklıydı ( $p < 0.05$ ).

#### **4.2. SERUM BİYOKİMYA BULGULARI**

Çalışmada kan biyokimyasal parametrelerinin analizleri için örnekleme zamanları phlorizin ve yem kısıtlamasından 24 saat önceki 0. saat, 1.gün 2. saat, 2. gün, 3. Gün, 4. gün, 4. gün 2. saat, 4. gün 6. saat, 5. gün, 6. gün ve 7. gün olarak düzenlenmiştir.

Deneme süresince her üç gruptaki tüm koyunlardan bu örnekleme saatlerinde serum örneklerinde NEFA, BHB, BUN, Kreatinin, Total Protein, Albümin, AST, GGT, ALP, Trigliserid ve Glikoz düzeylerinde 0. saate göre grup içi ve aynı saat verilerinin gruplar arası farklılıklar belirlenmiştir. Tüm biyokimyasal parametrelerin ortalama konsantrasyonları verilirken Tablo 4.2 ve 4.6'da verilmiş ve her bir parametredeki değişimler ise Şekil 4.1 den 4.11'e kadar grafiklerle gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Kontrol ve deneme gruplarına ait klinik bulgular.

| Gruplar           | Günler                  |                           |                                                      |                                                                            |                                                           |                                                           |                                                             |                                                             |
|-------------------|-------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
|                   | Normal bakım<br>besleme | Phlorizin+Yem kısıtlaması |                                                      |                                                                            |                                                           |                                                           | Tedavi Sonrası                                              |                                                             |
|                   |                         | 1.g 2. S                  | 2.g                                                  | 3.g                                                                        | 4. g                                                      | 5. g                                                      |                                                             |                                                             |
| Grup I<br>(n=6)   | 0. saat                 |                           | Durgunluk<br>Hipomotilite<br>Dışkı miktarında azalma | Hipereksitasyon,<br>diş gıcırdatma,<br>pika, boş<br>çığneme<br>hareketleri | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk ve<br>yatma, kilo<br>kaybı | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk ve<br>yatma, Kilo<br>kaybı | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk,<br>Halsizlik, kilo<br>kaybı | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk,<br>Halsizlik,<br>kilo kaybı |
|                   | N                       | N                         |                                                      |                                                                            |                                                           |                                                           |                                                             |                                                             |
| Grup II<br>(n=6)  |                         |                           | Durgunluk<br>Hipomotilite<br>Dışkı miktarında azalma | Hipereksitasyon,<br>diş gıcırdatma,<br>pika, boş<br>çığneme<br>hareketleri | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk ve<br>yatma, kilo<br>kaybı | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk ve<br>yatma, kilo<br>kaybı | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk,<br>Halsizlik, kilo<br>kaybı | MSS<br>bulguları,<br>Durgunluk,<br>Halsizlik,<br>kilo kaybı |
|                   | N                       | N                         |                                                      |                                                                            |                                                           |                                                           |                                                             |                                                             |
| Grup III<br>(n=6) |                         |                           | Durgunluk<br>Hipomotilite<br>Dışkı miktarında azalma | Hipereksitasyon,<br>diş gıcırdatma,<br>pika, boş<br>çığneme<br>hareketleri | İnleme,<br>titreme,<br>hipertermi,<br>kilo kaybı          | kilo kaybı<br>N                                           | kilo kaybı<br>N                                             | kilo kaybı<br>N                                             |
|                   | N                       | N                         |                                                      |                                                                            |                                                           |                                                           |                                                             |                                                             |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup, **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup, **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. g: gün. S: Saat, N: normal belirtiler, MSS: Merkezi sinir sistemi

**Tablo 4.2** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Esterleşmemiş yağ asidi (NEFA) ve Beta hidroksi bütirik asid (BHB) konsantrasyonları

| Parametreler    | Gruplar               | Örnekleme Zamanları<br>(Günler) |                           |         |         |         |              |                |         |            |            |
|-----------------|-----------------------|---------------------------------|---------------------------|---------|---------|---------|--------------|----------------|---------|------------|------------|
|                 |                       | NBB                             | Phlorizir+Yem kısıtlaması |         |         |         |              | Tedavi Sonrası |         |            |            |
|                 |                       | 0. saat                         | 1.g 2.saat                | 2.g     | 3.g     | 4. g    | 4. g 2. saat | 4. g 6. s      | 5. g    | 6. g       | 7. g       |
| NEFA<br>(mg/dl) | <b>Grup I</b> (n=6)   | 2.6±1.1                         | 2.0±0.6 B                 | 3.2±0.9 | 3.4=1.2 | 2.5±1.0 | 2.5±0.9 A    | 2.1±0.7 A      | 2.1±2.1 | 1.1±0.9    | 0.6±0.14 B |
|                 | <b>Grup II</b> (n=6)  | 2.0±0.4 a                       | 0.8±0.1 A,<br>b           | 1.8±0.2 | 2.8=0.8 | 2.0±0.4 | 0.5±0.2 B, b | 0.5±0.1 B, b   | 1.5±0.6 | 0.7±0.4, b | 1.0±0.5 B  |
|                 | <b>Grup III</b> (n=6) | 2.7±0.4, a                      | 2.0±0.5 B                 | 3.3±0.9 | 2.1=1.3 | 2.5±0.9 | 6.7±2.5 C, b | 12.9±4.0 C, c  | 2.9±1.4 | 1.9±0.6    | 2.4±0.8 A  |
| BHB<br>(mmol/L) | <b>Grup I</b> (n=6)   | 2.7±0.6                         | 2.8±0.4                   | 3.1±0.4 | 3.3=0.2 | 3.0±0.3 | 3.0±0.5      | 3.1±0.4        | 2.8±0.7 | 2.8±0.6    | 2.0±0.1    |
|                 | <b>Grup II</b> (n=6)  | 2.9±0.7                         | 2.4±0.1                   | 3.4±0.2 | 3.6=0.1 | 2.6±0.9 | 2.9±0.6      | 2.1±1.2        | 3.3±0.4 | 2.5±0.6    | 2.4±0.8    |
|                 | <b>Grup III</b> (n=6) | 2.9±0.7                         | 2.2±0.1                   | 2.8±0.8 | 2.9=0.1 | 3.3±0.3 | 3.1±0.4      | 3.1±0.4        | 3.0±0.9 | 3.1±0.5    | 2.9±0.5    |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. NBB: normal bakım besleme, g: gün. S: Saat. Veriler X±SS verilmiş olup, önem derecesi  $p<0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler (A, B, C) aynı saatlerdeki gruplar arası farkı, küçük alfabetik harfler (a, b, c) ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır.

**Tablo 4.3.** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama kan üre nitrojen (BUN) ve kreatinin konsantrasyonları

| Örnekleme Zamanları (Günler) |                   |            |                           |           |             |             |            |                |             |           |            |  |
|------------------------------|-------------------|------------|---------------------------|-----------|-------------|-------------|------------|----------------|-------------|-----------|------------|--|
| Parametreler                 | Gruplar           | NBB        | Phlorizin+Yem kısıtlaması |           |             |             |            | Tedavi Sonrası |             |           |            |  |
|                              |                   | 0. saat    | 1.g 2.s                   | 2.g       | 3.g         | 4. g        | 4. g 2. s  | 4. g 6. s      | 5. g        | 6. g      | 7. g       |  |
|                              |                   |            |                           |           |             |             |            |                |             |           |            |  |
| BUN<br>(mg/dl)               | Grup I (n=6)      | 32.5±2.5   | 40.0±8.2                  | 33.3±12.5 | 43.3±4.7    | 46.7±12.5   | 35.0±5.0   | 38.3±6.2       | 36.7±9.4    | 40.0±8.2  | 33.3±4.7   |  |
|                              | Grup II (n=6)     | 34.3±9.9 a | 33.3±12.5                 | 35.0±10.8 | 30.0±8.2    | 41.7±6.2    | 50.0±8.2 b | 46.7±12.5 b    | 43.3±4.7    | 45.1±4.1  | 33.3±9.4   |  |
|                              | Grup III<br>(n=6) | 31.7±7.6 a | 41.7±7.2                  | 40.0±5.0  | 46.7±32.1 b | 53.3±11.5 b | 40.0±10.0  | 45.0±5.0       | 51.7±10.4 b | 36.7±15.3 | 51.7±7.6 b |  |
| KREATİNİN<br>(mg/dl)         | Grup I (n=6)      | 0.7±0.1    | 0.4±0.4                   | 0.7±0.6   | 0.4±0.3     | 0.8±0.6     | 0.3±0.3    | 0.9±0.6        | 0.8±0.4     | 0.5±0.4   | 0.5±0.2    |  |
|                              | Grup II (n=6)     | 0.6±0.2    | 0.4±0.3                   | 0.6±0.2   | 0.3±0.2     | 0.6±0.2     | 0.8±0.7    | 0.6±0.4        | 0.8±0.7     | 0.9±0.2   | 0.4±0.1    |  |
|                              | Grup III<br>(n=6) | 0.7±0.1    | 0.5±0.3                   | 0.9±0.3   | 0.8±0.3     | 1.1±0.7     | 1.3±0.4    | 1.2±0.2        | 0.9±0.2     | 1.1±0.5   | 0.8±0.7    |  |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. NBB: normal bakım besleme g: gün. S: Saat, Veriler  $\bar{X} \pm SS$  verilmiş olup, önem derecesi  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler aynı saatlerdeki gruplar arası farkı, küçük alfabetik harfler ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır.

Tablo 4.4. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Total protein ve Albümin konsantrasyonları

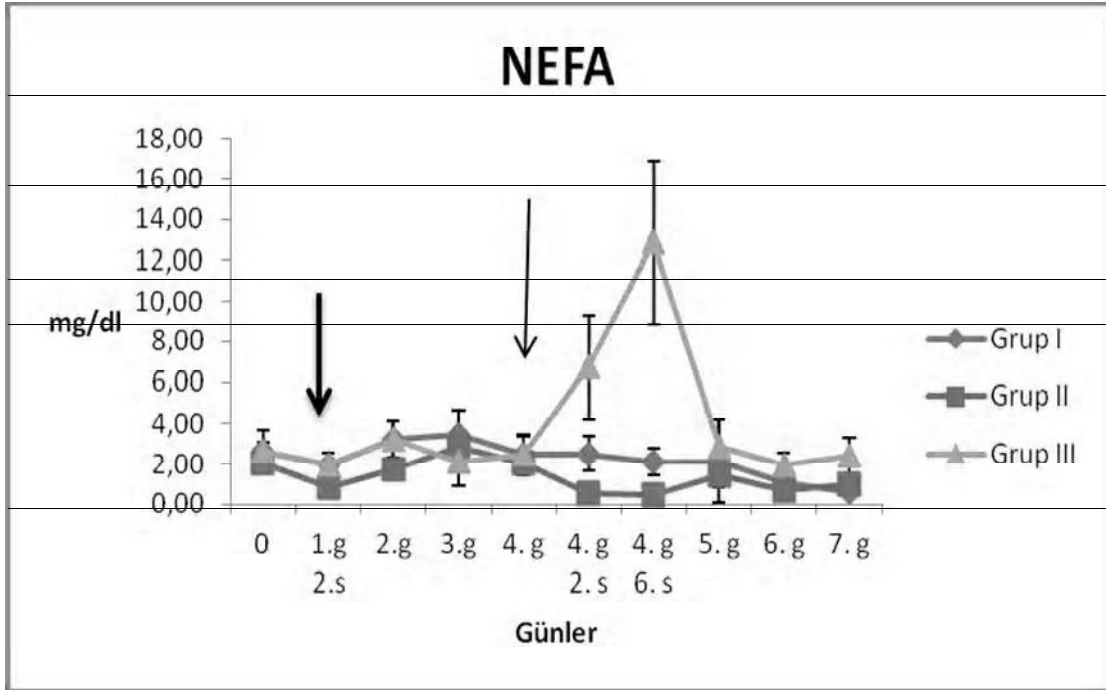
| Parametreler               | Gruplar        | Örnekleme Zamanları (Günler) |                           |          |          |          |           |                |               |          |          |
|----------------------------|----------------|------------------------------|---------------------------|----------|----------|----------|-----------|----------------|---------------|----------|----------|
|                            |                | NBB                          | Phlorizin+Yem kısıtlaması |          |          |          |           | Tedavi Sonrası |               |          |          |
|                            |                | 0. saat                      | 1.g 2.s                   | 2.g      | 3.g      | 4. g     | 4. g 2. s | 4. g 6. s      | 5. g          | 6. g     | 7. g     |
| TOTAL<br>PROTEİN<br>(g/dl) | Grup I (n=6)   | 15.0±2.0                     | 12.1±4.4                  | 15.6±0.3 | 12.3±3.4 | 11.4±5.4 | 13.2±2.0  | 10.0±1.9 B     | 10.5±3.5 B    | 12.8±1.0 | 11.9±4.3 |
|                            | Grup II (n=6)  | 9.7±3.0                      | 8.2±4.5                   | 11.6±4.2 | 10.0±5.0 | 9.6±5.6  | 4.0±0.3   | 6.0±3.2 B      | 10.1±1.9 B    | 15.6±0.4 | 12.0±8.0 |
|                            | Grup III (n=6) | 13.0±4.0 a                   | 20.1±3.0                  | 21.0±3.4 | 20.5±0.3 | 16.4±1.0 | 17.3±3.3  | 27.8±7.9 A b   | 21.5±2.1 A, b | 20.0±2.1 | 17.9±1.3 |
| ALBÜMİN<br>(g/dl)          | Grup I (n=6)   | 3.1±0.5                      | 2.9±0.4                   | 2.8±0.5  | 3.1±0.5  | 3.1±0.4  | 3.4±0.4   | 3.0±0.5        | 3.2±0.3       | 3.0±0.5  | 3.2±0.4  |
|                            | Grup II (n=6)  | 2.0±0.4                      | 1.9±0.6                   | 2.3±0.4  | 3.1±0.8  | 3.7±0.5  | 2.9±0.4   | 3.3±0.4        | 3.1±0.5       | 3.7±0.5  | 3.0±0.2  |
|                            | Grup III (n=6) | 3.5±0.6                      | 3.3±0.4                   | 3.8±0.3  | 3.2±0.4  | 3.7±0.1  | 3.5±0.7   | 3.9±0.4        | 4.0±0.3       | 3.1±0.6  | 3.7±0.3  |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. NBB: normal bakım besleme, g: gün. S: Saat, Veriler X±SS verilmiş olup, önem derecesi  $p<0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler aynı saatlerdeki gruplar arası farkı, küçük alfabetik harfler ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır.

**Tablo 4.5.** Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Aspartat aminotransferaz (AST), Gamaglutamil transferaz (GGT) ve Alkalen fosfataz (ALP) aktiviteleri

| Parametreler | Gruplar        | Örnekleme Zamanları (Günler) |                           |             |                |             |                   |                 |                |                |                |
|--------------|----------------|------------------------------|---------------------------|-------------|----------------|-------------|-------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|
|              |                | NBB                          | Phlorizin+Yem kısıtlaması |             |                |             |                   |                 | Tedavi Sonrası |                |                |
|              |                | 0. saat                      | 1.g.2.s                   | 2.g         | 3.g            | 4.g         | 4.g.2.s           | 4.g.6.s         | 5.g            | 6.g            | 7.g            |
| AST          | Grup I (n=6)   | 27.2±9.6                     | 27.1±7.5                  | 25.5±5.2    | 28.0±8.2       | 32.1±6.5    | 31.2±7.2 B        | 40.2±13.0 B     | 55.6±12.5 B    | 37.7±16.9      | 32.5±22.5      |
|              | Grup II (n=6)  | 18.8±7.6                     | 15.4±7.2                  | 15.7±8.1    | 27.4±4.7       | 25.9±10.1   | 34.6±1.5 B        | 50.7±7.9 B      | 27.0±2.7 B     | 25.9±3.6       | 29.2±2.9       |
|              | Grup III (n=6) | 29.7±13.7 a                  | 22.7±12.1                 | 33.4±5.6    | 24.5±12.8      | 31.3±6.7    | 60.5±16.3 A,<br>b | 108.3±36.2 A, c | 87.6±37.5 A, b | 61.8±15.3      | 44.9±24.8      |
| GGT          | Grup I (n=6)   | 12.3±3.0 a                   | 21.9±8.6 b                | 18.7±4.5    | 15.5±1.7       | 23.8±5.1 b  | 16.7±4.4          | 16.4±4.7 B      | 16.1±4.5 B     | 13.6±5.2       | 19.2±4.7 B     |
|              | Grup II (n=6)  | 15.1±3.7 a                   | 16.4±10.6 b               | 22.1±5.0 b  | 20.5±3.7       | 31.3±5.9 b  | 18.2±3.0          | 19.3±7.8 B      | 21.8±0.4 B     | 30.8±11.7      | 12.7±9.4 B     |
|              | Grup III (n=6) | 18.5±6.3 a                   | 29.4±9.7 b                | 24.9±4.6    | 25.7±4.2       | 30.4±13.1 b | 23.3±8.5          | 44.6±4.6 A, c   | 40.3±3.0 A, c  | 30.4±3.0 b     | 30.1±6.4 A,b   |
| ALP          | Grup I (n=6)   | 15.0±1.1 a                   | 43.4±18.1 b               | 25.7±6.0 c  | 28.0±11.1 B    | 40.0±11.2 b | 31.3±4.3 B        | 32.4±7.3 B      | 29.6±2.8 B     | 21.8±10.5 B    | 46.2±16.4 B    |
|              | Grup II (n=6)  | 20.0±5.3 a                   | 50.9±9.1 b                | 59.1±4.4 b  | 71.4±15.2 A, c | 74.1±17.4 c | 63.4±23.6 A,<br>b | 62.8±7.5 A, b   | 53.3±20.0 A, b | 92.2±20.9 A, c | 72.3±21.1 c, A |
|              | Grup III (n=6) | 21.6±12.1 a                  | 56.7±13.3 b               | 44.4±11.6 b | 61.3±7.5 A, c  | 51.8±15.5 b | 25.3±7.8 B        | 69.5±26.2 A, c  | 47.8±43.6 A, b | 75.7±29.7 A, c | 58.5±16.6 B, c |

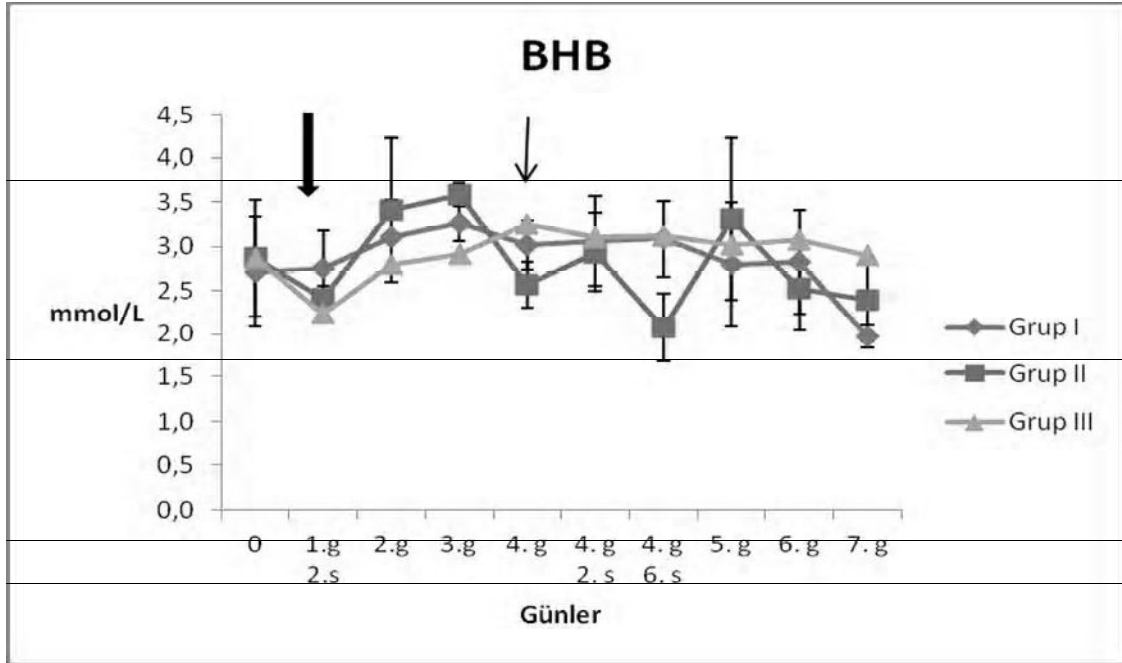
**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup, NBB: normal bakım besleme g: gün. S: Saat, Veriler X±SS verilmiş olup, önem derecesi  $p<0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler aynı saatlerdeki gruplar arası farkı, küçük alfabetik harfler ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır.



**Şekil 4.1.** Ortalama serum NEFA (Esterleşmemiş yağ asitleri) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Phlorizin uygulaması ve yem kısıtlaması ile ortalama serum NEFA düzeyleri 1. gün 2. saat ortalama verilerinde grup II de istatistiksel olmak üzere ( $p < 0.05$ ), diğer gruplarda tedrici azalmalar görüldü. Bu değer diğer grupların aynı saat verilerinden de önemli oranda düşüktü. Daha sonra hafif düzeylerde yükselme eğiliminde olan bu değer grup III de 4. günden sonra önemli oranda artış gösterdi. Gruplar arasında 4. gün 2. ve 6. saat verileri tüm gruplarda birbirinden farklıydı.

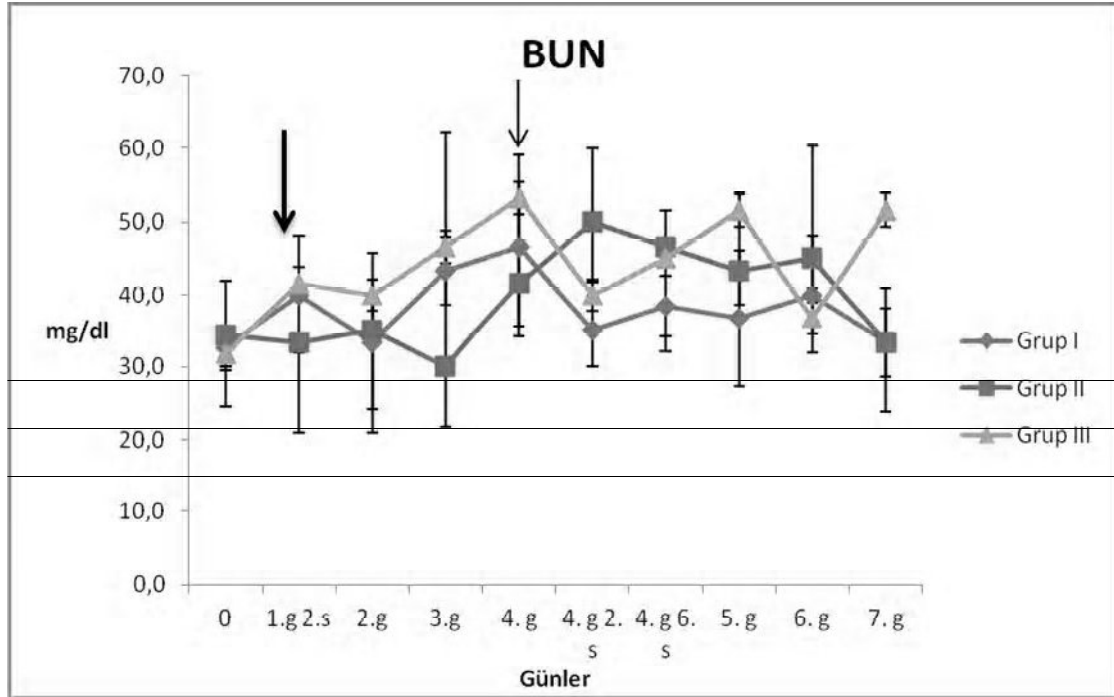
Kontrol grubu ortalama NEFA konsantrasyonları son 3 örnekleme gününde 0. saate göre kademeli şekilde azalma eğilimindeydi. Damar içi TPLE grubunda ortalama NEFA düzeyleri 4. Gün 2. ve 6. Saat değerlerinde diğer saatlerdeki verilerden istatistikî açıdan önemli oranda ( $p < 0.05$ ) yüksek bulundu. Dekstroz verilenlerde ise aynı saatlerde diğer saatlere göre düşme eğiliminde idi. Ortalama NEFA düzeyleri tedavi etkinliğine bağlı olarak aynı saatlerde hem kontrol hem de damar içi İL grubuna göre dekstroz grubunda daha düşük olarak belirlendi (Tablo 4.2).



**Şekil 4.2.** Ortalama serum BHB (Beta hidroksi bütirik asit) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Phlorizin uygulaması ve yem kısıtlaması ile ortalama serum BHB konsantrasyonları 1. gün 2. saat ortalama verilerinde tüm gruplarda sayısal azalmalar görüldü (Şekil 4.2). Dördüncü güne kadar tedrici bir artış belirlendi.

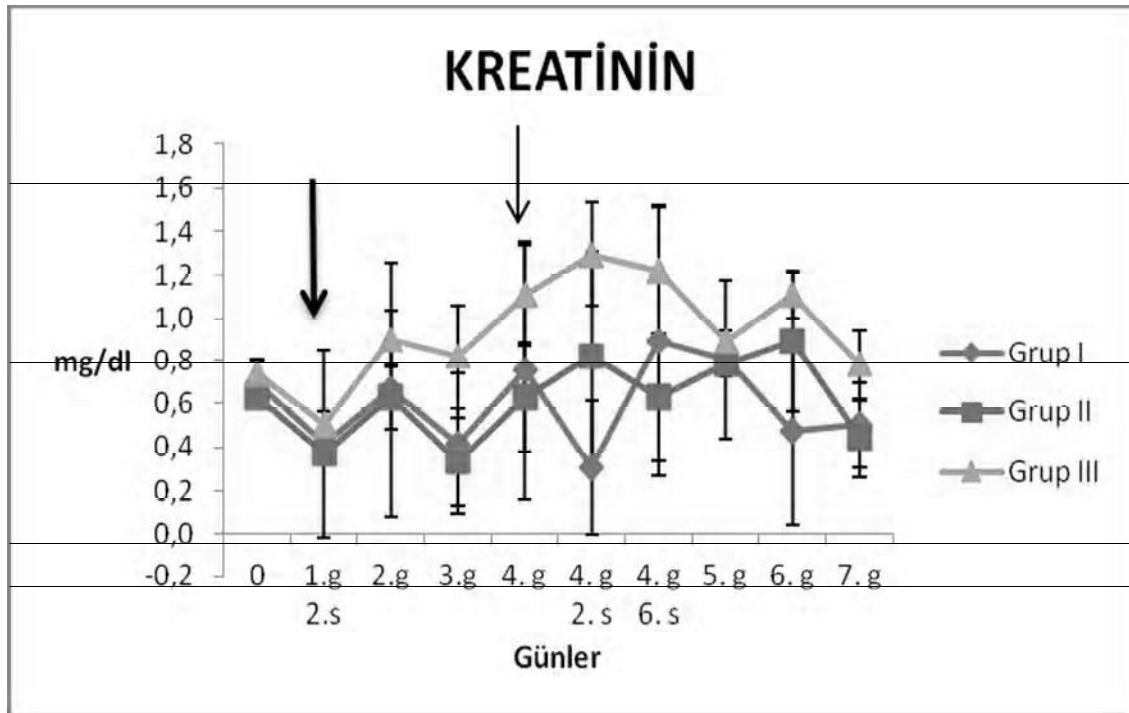
Ortalama BHB konsantrasyonları deneme süresince özellikle grup I ve grup III de birbirine paralel seyretmekle birlikte, grup II de önceki gruplardan bir miktar ayrılmalar belirlendi, fakat bu farklılıklar anlamlı bulunmadı. İkinci ve 3. günlerde önceki değerlere göre serum BHB düzeyleri sayısal olarak artışlar tarzında değişikliğe uğramadı.



**Şekil 4.3.** Ortalama serum BUN (Beta hidroksi bütirik asit) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Ortalama BUN değerleri 0. saat verilerine göre tedrici artışlarla karakterize olmuştur. Grup I ve III de tedavi sonrası azalmış, grup II de ise artış tarzında değişim gösterdi.

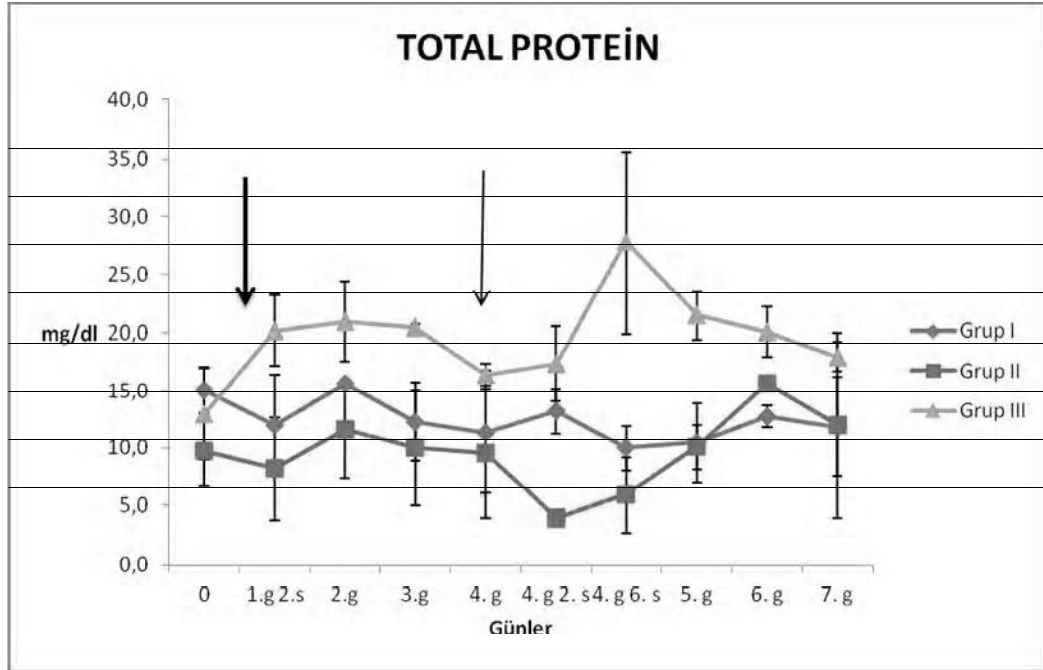
Ortalama BUN düzeyleri Dekstroz ve Kontrol gruplarında tüm saatlerde anlamlı değişimler göstermedi. Bununla birlikte damar içi lipit solusyonu verilen koyunlarda 3. ve 4. Gün 2. Saatten itibaren 5. güne kadar istatistiksel açıdan önemli oranda ilk saat verilerinden daha yüksek olduğu görüldü. Son elde edilen veri de yine önemli oranda yüksekti. Gruplar arasında grup II ve grup III verileri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olmamakla birlikte sayısal olarak yüksekti (Şekil 4.3).



**Şekil 4.4.** Ortalama serum Kreatinin düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Ortalama kreatinin değerleri tüm gruplarda bir takım değişimler göstermekle birlikte, bu sayısal değişimler anlamlı değildi. Bununla birlikte tedavi sonrası bu değer grup I'de azalırken, diğer gruplarda artışla seyretti.

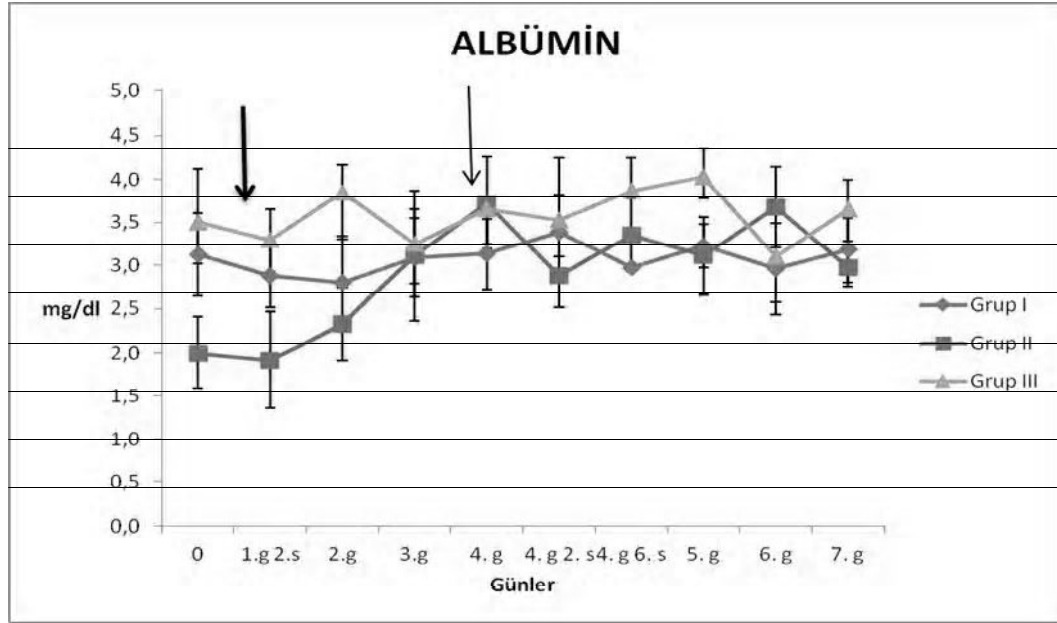
Ortalama Kreatinin düzeyleri tüm gruplarda gerek grup içi gerekse gruplar arasında önemli oranda değişim göstermedi. Grup III verilerinde damar içi lipit solusyonu verildikten sonra bir miktar artışlar görülmüş fakat bu verilerde normal sınırlar içerisinde kaldığı belirlendi (Şekil 4.4).



**Şekil 4.5.** Ortalama serum Total protein düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

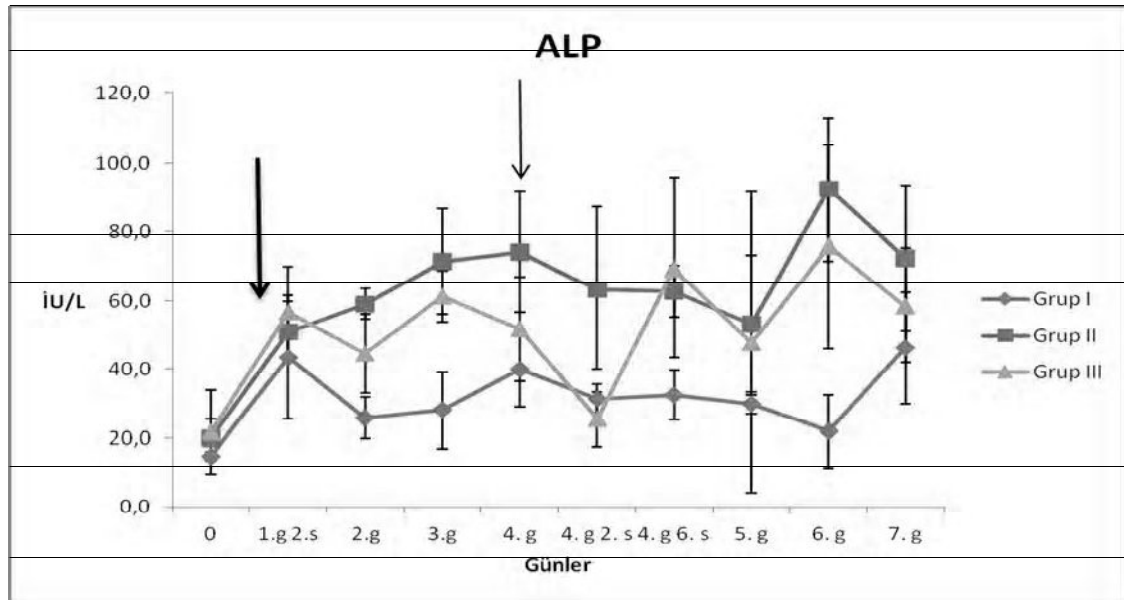
Ortalama total protein değerlerinde rakamsal değişimler istatistiksel açıdan önemli değildi.

Ortalama total protein değerlerinde grup I ve II de değişim gözlenmedi. Ortalama grup III verilerinin ise bu gruplardan daha yüksek olduğu, özellikle 4. Gün 6. Saat ve 5. Gün verilerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi (Şekil 4.5).



**Şekil 4.6.** Ortalama serum Albümin düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

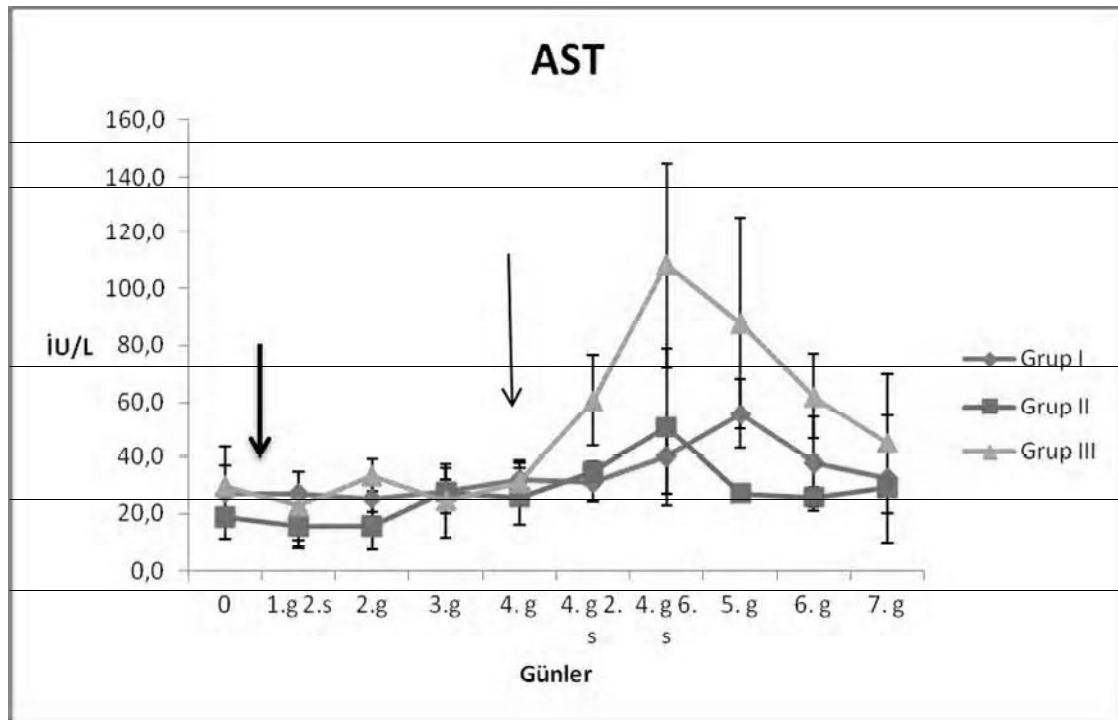
Ortalama albümin seviyeleri tüm gruplarda değişim göstermeksizin birbirleri ile paralel seyir izlediği belirlendi (Şekil 4.6).



**Şekil 4.7.** Ortalama serum Alkalen fosfataz (ALP) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Ortalama ALP aktiviteleri gruplar arasında 3. gün ortalamaları grup II ve III de grup I den farklı olarak önemli oranda yüksek bulundu. Grup II ve III verileri ise farklı değildi. Dördüncü gün 2. saatte grup II değeri diğer gruplardan daha yüksek, 6. saatten itibaren grup I değeri diğer gruplardan daha düşük belirlendi (Tablo 4.5).

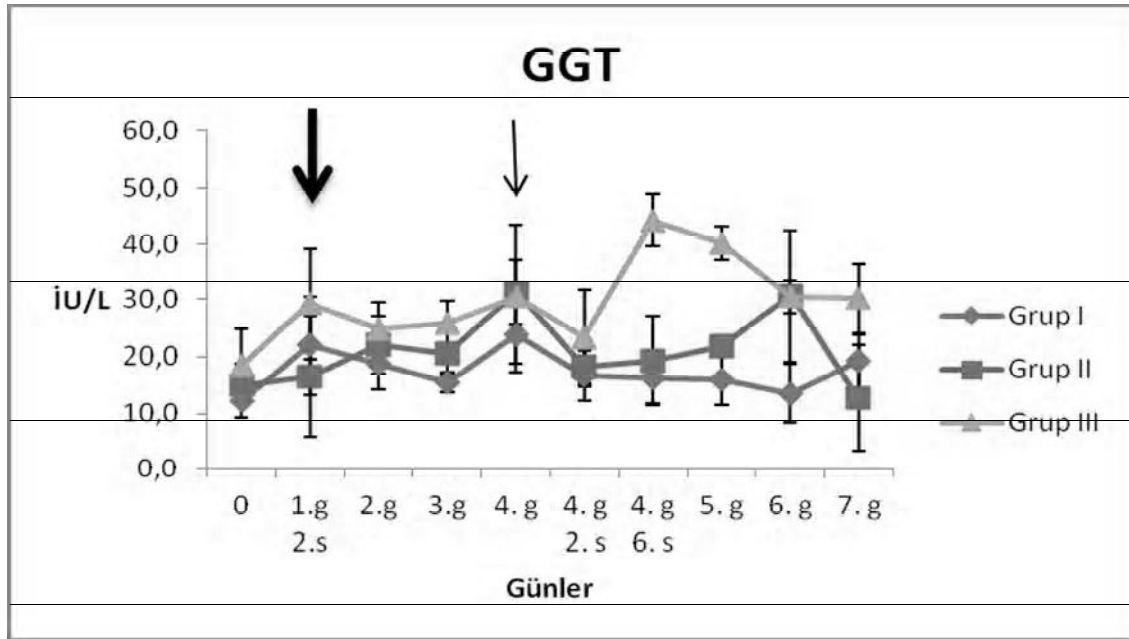
Ortalama ALP aktiviteleri denemenin başlaması ile birlikte tüm gruplarda 0. saat verilerine göre istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek seyretti. Tedavi gruplarının ortalama serum ALP aktiviteleri 3. günden itibaren 4. gün 2., 6. saat, 5 ve 6. gün de alınan değerlerde kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Buna rağmen Dekstroz ya da damar içi lipit emülsiyonu ile tedavi edilen gruplar arasında fark belirlenmedi. Tüm ortalama ALP aktiviteleri koyunlar için bildirilen referans değer aralıklarında izlendi.



**Şekil 4.8.** Ortalama serum Aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

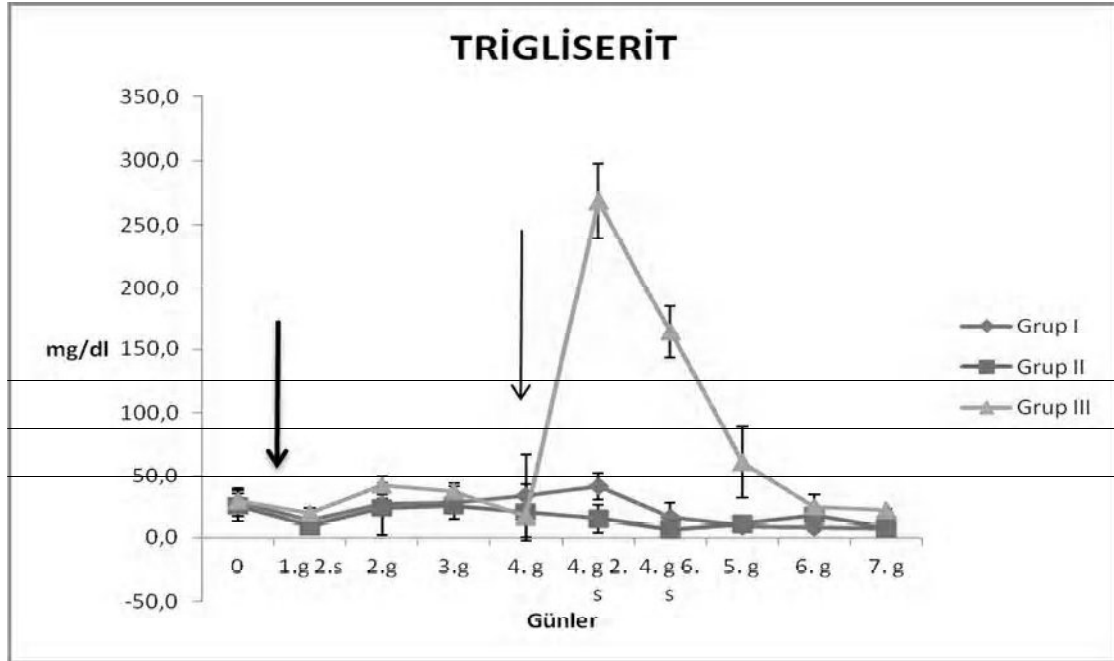
Ortalama AST aktiviteleri 4. Gün 2. Saat, 5. Ve 6. Gün verilerinde damar içi lipit grubunda 0. Saat verisinden yüksek olduğu görüldü. Aynı grupta 4. Gün 2. Saatte ortalama AST aktivitesi hem dekstroz hem de kontrol gruplarından önemli oranda yüksek

belirlendi. Beşinci ve 6. gün verisi de yine istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek belirlendi.



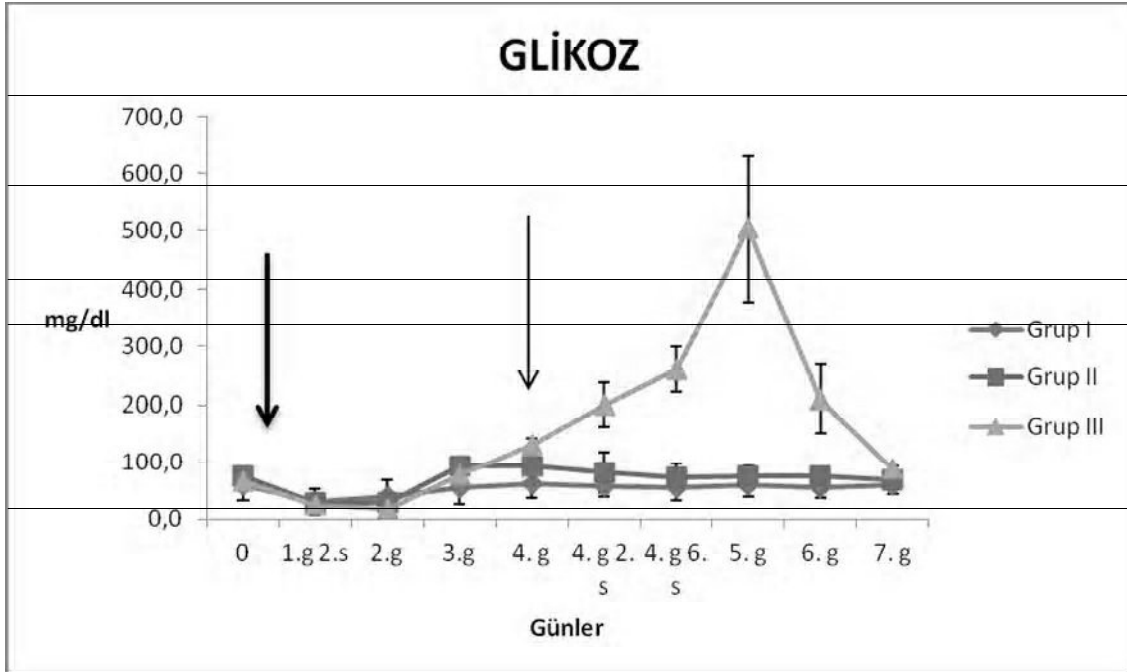
**Şekil 4.9.** Ortalama serum Gamaglutamil transferaz (GGT) düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Grup I, II ve III de ortalama GGT değerlerinde açlık ve phlorizin uygulaması ile artış şeklinde değişimler gözlenmiştir. Ayrıca grup III de 4. gün 6. saat ve 5. gün verilerinin diğer grupların aynı saat verilerinden istatistiksel açıdan önemli oranda ( $p<0.05$ ) daha yüksek olduğu görüldü. Fakat grup III deki bu artışların da koyunlarda GGT düzeyleri için rapor edilen normal sınırlar içerisinde olduğu görüldü.



**Şekil 4.10.** Ortalama serum Trigliserit düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Denemeye başlandıktan ve 0. Saatten sonraki ortalama Trigliserit konsantrasyonları önemli oranda azaldı. Dekstroz grubunda ortalama Trigliserid düzeyleri 4. Gün 6. Saat verilerinden itibaren önceki verilere göre azalma eğiliminde olduğu gözlemlendi. Damar içi İL grubunda 4. Gün 2. Saatten itibaren 5. günde dahil olmak üzere diğer saatlerde alınan değerlerden anlamlı oranda yüksek olduğu görüldü. Aynı saatlerdeki bu değerler diğer grupların aynı saat verilerinden de önemli oranda yüksekti ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.11.** Ortalama serum Glikoz düzeylerinde oluşan değişimler. Kalın siyah ok; Phlorizin uygulaması ve açlık başlangıcı, ince siyah ok; tedavi başlangıcı. g: gün, s: saat

Ortalama serum glikoz konsantrasyonları özellikle phlorizin verilmesiyle birlikte azalmıştır ( $p < 0.05$ ). Gıda alımındaki sınırlamanın ve phlorizin enjeksiyonunun sonlandırılması ile birlikte bütün gruplarda artışlar gözlemlendi. Bununla birlikte bu artışlar grup III de çok daha fazla oranda şekillendiği ve bir hiperglisemi tablosu oluşturduğu belirlendi. Grup III verilerindeki artışlar 4. gün 2. saatten itibaren 6. Gün ortalamasına kadar diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek seyretti (Tablo 4.6). Deney sonuna doğru tedrici azalan grup III değerleri son değerde diğer grupların değerlerine paralel seyir izledi.

### **4.3. HEMATOLOJİK ANALİZ BULGULARI**

Çalışmada koyunların total lökosit (WBC), total eritrosit (RBC) sayıları ile hemoglobin değerlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan hematolojik analizler için EDTAlı kan örnekleri 0. saat, 1.gün, 2. saat, 2.gün, 3.gün, 4. gün, 5. gün, 6. gün ve 7.günlerde toplandı. Bu örnek zamanları serum örneklerinden farklı biçimde 4. 2. ve 6. saat verilerini içermedi.

Deneme süresince parametrelerdeki ortalama değişimler 0. saate göre grup içi farklılıkları belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılık aynı saatlerdeki ortalama verilerin karşılaştırılmaları ile elde edilmiştir. Tüm hematolojik parametrelerin ortalama konsantrasyonları Tablo 4.7’de verildi.

#### 4.4. İDRAR DEEP-STICK ANALİZİ BULGULARI

Tablo 4.6. Kontrol ve deneme gruplarının ortalama Trigliserid ve Glikoz konsantrasyonları

| Örnekleme Zamanları (Günler) |                |             |                           |             |             |                 |                 |                 |                 |                 |            |
|------------------------------|----------------|-------------|---------------------------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|
| Parametreler                 | Gruplar        | NBB         | Phlorizin+Yem kısıtlaması |             |             |                 |                 | Tedavi Sonrası  |                 |                 |            |
|                              |                |             | 0. saat                   | 1. g 2. s   | 2. g        | 3. g            | 4. g            | 4. g 2. s       | 4. g 6. S       | 5. g            | 6. g       |
| TRİGLİSERİD (mg/dl)          | Grup I (n=6)   | 28.2±11.6 a | 13.0±3.5 b                | 27.1±3.7    | 27.7±14.0   | 33.3±33.5       | 41.2±11.2 C     | 15.3±12.1 B     | 9.0±3.2 B       | 7.9±1.6         | 7.3±0.8 B  |
|                              | Grup II (n=6)  | 24.9±12.7 a | 8.5±4.5 b                 | 23.2±21.1   | 24.9±1.0    | 20.3±22.9       | 14.7±11.0 B     | 6.2±3.5 B       | 10.7±2.6 B      | 16.9±6.1        | 6.8±1.7 B  |
|                              | Grup III (n=6) | 29.3±6 a    | 18.6±5.1                  | 42.4±7.8    | 36.7±7.1    | 16.4±5.4        | 268.6±29.1 A, b | 164.2±20.9 A, b | 60.7±28.4 A, b  | 24.3±9.8        | 21.5±1.0 A |
| GLİKOZ (mg/dl)               | Grup I (n=6)   | 61.1±27.8 a | 30.5±23.0 b               | 40.4±28.6 b | 55.9±28.2 b | 62.7±24.2 B, b  | 58.9±18.0 B, b  | 55.3±21.0 B     | 60.0±19.3 B     | 55.7±17.7 B     | 59.3±15.3  |
|                              | Grup II (n=6)  | 75.3±5.0 a  | 28.7±9.6 b                | 30.1±12.9 b | 93.7±4.2 c  | 94.7±7.6 A, c   | 82.5±35.1 A, c  | 73.0±24.4 B     | 75.0±18.0 B     | 76.3±11.0 B     | 69.3±9.9   |
|                              | Grup III (n=6) | 67.0±15.7 a | 25.3±9.3 b                | 18.8±8.8 b  | 78.2±10.1 a | 131.7±10.4 A, c | 200.0±38.3 A, c | 261.0±38.2 A, c | 503.7±126.4 A d | 209.7±59.3 A, c | 89.3±4.2 a |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. NBB: normal bakım besleme, g: gün, S: Saat, Veriler X±SS verilmiş olup, önem derecesi p<0.05 düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler aynı saatlerdeki gruplar arası farkı, küçük alfabetik harfler ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır.

**Tablo 4.7.** Kontrol ve deneme gruplarına ait ortalama Total lökosit, eritrosit ve hemogloblin düzeyleri

| Örnekleme Zamanları (Günler)                    |                |                           |           |            |           |            |                |           |            |
|-------------------------------------------------|----------------|---------------------------|-----------|------------|-----------|------------|----------------|-----------|------------|
| Parametreler                                    | Gruplar        | Phlorizin+Yem kısıtlaması |           |            |           |            | Tedavi Sonrası |           |            |
|                                                 |                | 0. saat                   | 1.g 2. s  | 2.g        | 3.g       | 4. g       | 5. g           | 6. g      | 7. g       |
| WBC<br>x10 <sup>3</sup><br>adet/mm <sup>3</sup> | Grup I (n=6)   | 10.5±4.3                  | 9.8±4.0   | 10.4±4.8   | 12.0±6.9  | 11.7±5.5   | 12.0±4.0       | 11.2±3.4  | 11.7±7.3   |
|                                                 | Grup II (n=6)  | 12.1±2.2                  | 12.0±0.2  | 10.1±2.1   | 11.3±0.3  | 10.8±1.6   | 10.3±0.7       | 10.5±1.5  | 13.1±3.1   |
|                                                 | Grup III (n=6) | 9.4±1.7 a                 | 9.7±1.2 a | 10.7±1.6 a | 8.5±1.5 a | 15.7±2.6 b | 9.0±0.8 a      | 8.4±3.1 a | 10.7±2.6 a |
| RBC<br>x10 <sup>6</sup><br>adet/mm <sup>3</sup> | Grup I (n=6)   | 12.1±2.2                  | 12.7±2.1  | 8.3±7.2    | 11.9±2.1  | 9.4±1.2    | 11.1±2.2       | 9.9±0.3   | 11.1±2.4   |
|                                                 | Grup II (n=6)  | 11.6±2.4                  | 10.5±0.6  | 10.9±0.6   | 12.9±1.0  | 9.8±0.5    | 9.6±1.8        | 10.0±1.2  | 10.9±2.8   |
|                                                 | Grup III (n=6) | 7.7±3.2                   | 10.9±2.2  | 11.4±4.5   | 11.8±3.4  | 10.6±1.9   | 10.0±1.8       | 8.5±6.9   | 6.2±4.4    |
| Hb<br>g/dl                                      | Grup I (n=6)   | 12.4±1.3                  | 13.3±1.2  | 13.5±0.9   | 13.3±0.2  | 14.1±0.1   | 15.4±2.3       | 14.4±0.6  | 13.1±0.8   |
|                                                 | Grup II (n=6)  | 12.1±2.2                  | 11.0±0.9  | 11.0±0.2   | 10.7±0.7  | 11.3±0.6   | 9.8±0.4        | 11.0±0.4  | 13.3±2.3   |
|                                                 | Grup III (n=6) | 10.5±1.5                  | 11.0±0.8  | 11.6±1.2   | 10.7±1.2  | 10.7±0.6   | 10.5±0.4       | 10.6±0.5  | 11.3±1.2   |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. NBB: normal bakım besleme g: gün. S: Saat, Veriler X±SS verilmiş olup, önem derecesi p<0.05 düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler aynı saatlerdeki gruplar arası farkı, küçük alfabetik harfler ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır.

**Tablo 4.8.** Kontrol ve deneme gruplarına ait idrar özgül ağırlığı (İÖA), pH ve protein düzeyi değişimleri

| Parametreler | Gruplar        | Örnekleme Zamanları (Günler) |                           |               |              |                    |              |              |              |                |  |
|--------------|----------------|------------------------------|---------------------------|---------------|--------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|--|
|              |                | NBB                          | Phlorizin+Yem kısıtlaması |               |              |                    |              |              |              | Tedavi Sonrası |  |
|              |                | 0. saat                      | 1.g 2. s                  | 2.g           | 3.g          | 4. g               | 5. g         | 6. g         | 7. g         |                |  |
| İÖA          | Grup I (n=6)   | 1006.5±7.2                   | 1007.5±11.9               | 1006.3±2.5    | 1005.0±4.1   | 1007.5±5.0 A       | 1003.8±4.8   | 1005.0±0.0   | 1006.3±2.5   |                |  |
|              | Grup II (n=6)  | 1008.5±7.5 a                 | 1008.3±2.9 a              | 1011.7±7.6 a  | 1013.3±2.9 a | 1020.0±3.2 B.<br>b | 1003.3±2.9 a | 1001.7±2.9 c | 1000.0±0.0 c |                |  |
|              | Grup III (n=6) | 1007.5±5.0 a                 | 1005.0±0.0 a              | 1010.0±10.0 a | 1015.0±5.0 b | 1020.0±5.0 B.<br>b | 1008.3±7.6 a | 1005.0±5.0 a | 1003.3±2.9 a |                |  |
| pH           | Grup I (n=6)   | 7.3±1.0 a                    | 7.5±1.0 a                 | 7.1±1.4 a     | 6.9±0.9 A. a | 6.0±0.8 b          | 8.8±0.5 c    | 8.8±0.5 c    | 8.5±1.0 c    |                |  |
|              | Grup II (n=6)  | 7.1±0.9 a                    | 7.3±1.2 a                 | 6.3±0.6 b     | 6.0±0.0 b    | 5.7±0.6 b          | 8.0±0.0 c    | 8.7±0.6 c    | 9.0±0.0 c    |                |  |
|              | Grup III (n=6) | 7.5±0.9 a                    | 8.3±0.6 a                 | 6.7±1.2 a     | 5.7±0.6 B. b | 5.7±0.6 b          | 6.7±1.5 b    | 7.5±0.7 a    | 8.0±0.0 a    |                |  |
| Protein      | Grup I (n=6)   | 0.3±0.5                      | 0.3±0.5                   | -             | -            | -                  | -            | 0.5±0.6      | -            |                |  |
|              | Grup II (n=6)  | -                            | -                         | 0.3±0.6       | -            | -                  | 1.7±0.6      | 2.3±0.6      | 1.7±0.6      |                |  |
|              | Grup III (n=6) | -                            | -                         | 0.3±0.6       | 0.3±0.6      | 0.7±0.6            | 0.7±0.6      | 1.0±0.0      | 1.0±0.0      |                |  |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. NBB: normal bakım besleme g: gün. S: Saat, Veçiler X±SS verilmiş olup. önem derecesi p<0.05 düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler aynı saatlerdeki gruplar arası farkı, küçük alfabetik harfler ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır. Protein düzeyleri + (1). ++ (2). +++ (3) ile numaralandırılmış, boş kutular ise proteinin ( - ) olduğu örneklerdir.

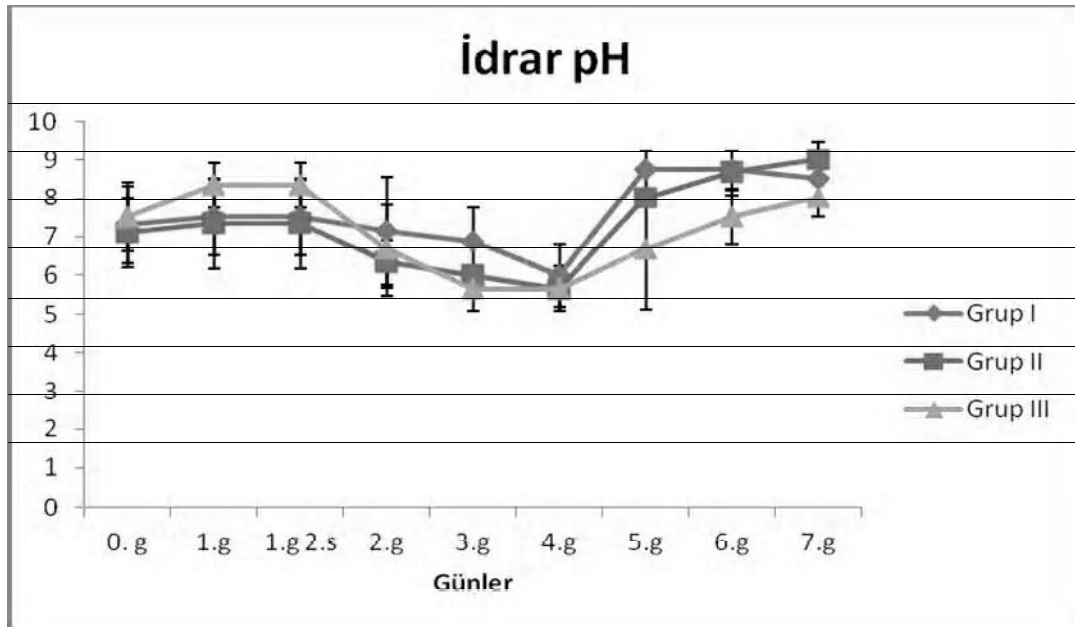
**Tablo 4.9.** Kontrol ve deneme gruplarına ait idrar glikoz ve keton düzeyi değişimleri.

| Parametreler | Gruplar        | Örnekleme Zamanları (Günler) |                           |         |         |         |         |                |       |  |  |
|--------------|----------------|------------------------------|---------------------------|---------|---------|---------|---------|----------------|-------|--|--|
|              |                | NBB                          | Phlorizin+Yem kısıtlaması |         |         |         |         | Tedavi Sonrası |       |  |  |
|              |                | 0. saat                      | 1.g 2. S                  | 2.g     | 3.g     | 4. g    | 5. g    | 6. g           | 7. g  |  |  |
| Glikoz       | Grup I (n=6)   | -                            | 3.5±0.6                   | 1.3±1.5 | -       | -       | -       | -              | -     |  |  |
|              | Grup II (n=6)  | -                            | 4±0                       | 1.3±2.3 | 1±1.7   | -       | 1.5±0.7 | -              | -     |  |  |
|              | Grup III (n=6) | -                            | 3.7±0.6                   | 2±2     | 1±1.4   | 1±1.4   | -       | -              | -     |  |  |
| Keton        | Grup I (n=6)   | -                            | -                         | -       | 0.8±1.0 | 1.0±0.8 | 2.3±1.0 | 0.3±0.5        | -     |  |  |
|              | Grup II (n=6)  | 0.3±0.5                      | 0.3±0.5                   | 1.7±0.5 | 1.7±0.5 | 1.3±0.9 | 2.0±0.8 | 1.0±0          | 1.0±0 |  |  |
|              | Grup III (n=6) | -                            | -                         | 0.3±0.5 | 1.7±0.5 | 1.7±0.5 | 0.3±0.5 | -              | -     |  |  |

**Grup I:** % 0.9 NaCl verilen grup. **Grup II:** % 30 Serum Dekstroz verilen grup. **Grup III:** Parenteral Lipit Emülsiyonu (PLE) verilen grup. NBB: normal bakım besleme g: gün. S: Saat. Veriler  $X \pm SS$  verilmiş olup, önem derecesi  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir. Büyük Alfabetik harfler aynı saatlerdeki gruplar arası farklı, küçük alfabetik harfler ise grup içinde 0. saate göre farklılıkları göstermek için kullanılmıştır. Glikoz ve keton düzeyleri + (1), ++ (2), +++ (3) ile numaralandırılmış olup değer olmayan kutular ise bu parametrelerin “-” olduğu örneklerdir.

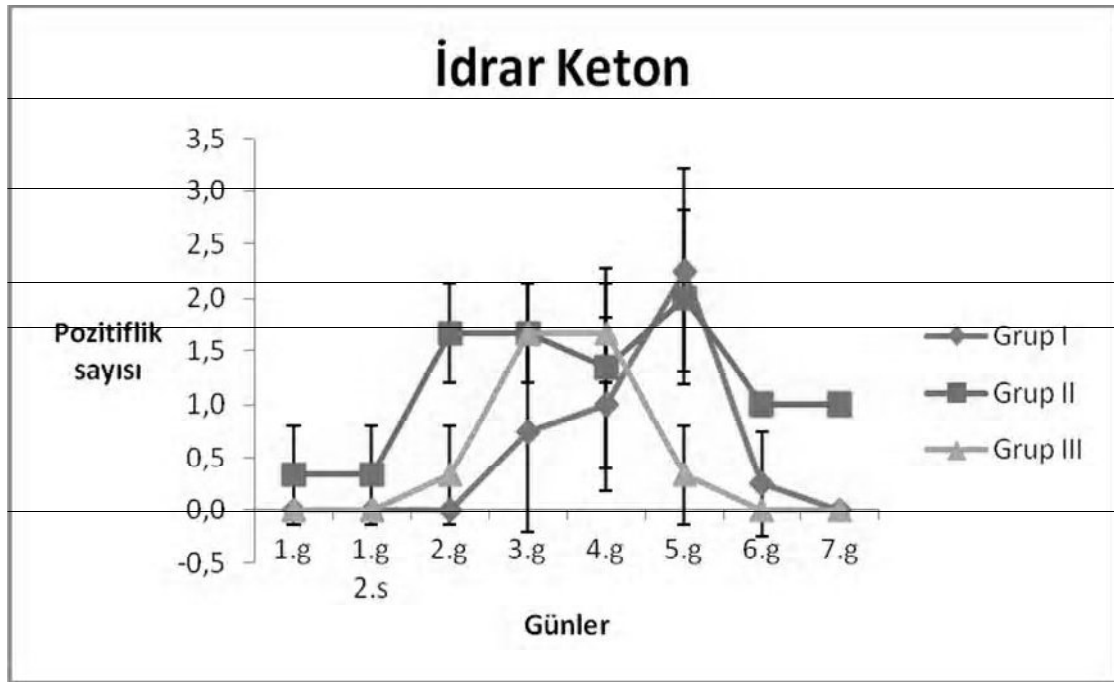
Projede açlık ve phlorizin uygulamasına bağlı koyunların idrar analizi bulgularının belirlenmesi amacıyla idrar örnekleri ise 0. saat, 1.gün, 2. saat, 2.gün, 3.gün, 4. gün, 5. gün, 6. gün ve 7.günlerde toplandı. İdrar özgül ağırlığı, pH, protein, glikoz ve keton değişimleri belirlendi.

Deneme süresince parametrelerdeki ortalama değişimler 0. saate göre grup içi farklılıkları belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar aynı saatlerdeki ortalama verilerin karşılaştırılmaları ile elde edildi. İdrar parametrelerinin yukarıdaki tablolarda ortalama konsantrasyonları verildi. (Tablo 4.8 ve 4.9). Ayrıca pH, glikoz ve keton değişimleri aşağıdaki grafiklerde gösterildi (Şekil 4.12-4.14).



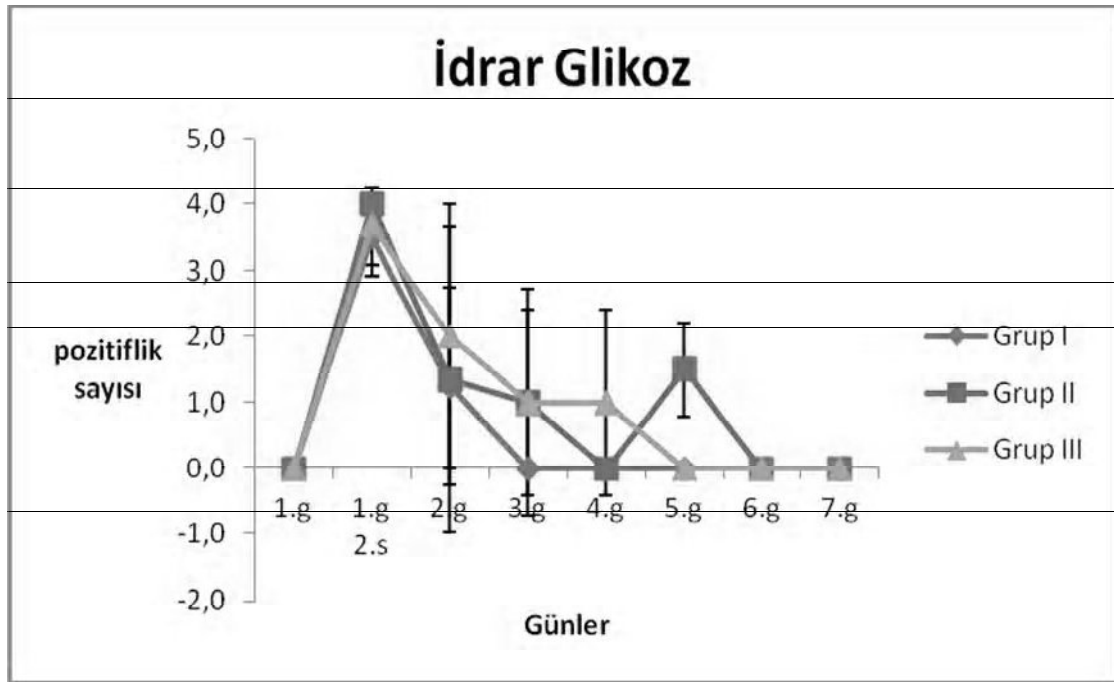
**Şekil 4.12.** Koyunlarda açlık ketozisine bağlı idrar pH sındaki değişimler

İdrarın pH düzeylerinde gelişen değişimler her üç grupta da paralel seyir izledi. İlk gün alınan her iki örnekte pH düzeylerinin 0. saat kontrol verilerine yakın olduğu ve farklılık olmadığı görüldü. Daha sonra elde edilen idrar pH düzeylerinin istatistiksel açıdan belirgin oranda önceki verilerden azalma tarzında sapma gösterdiği belirlendi ( $p < 0.05$ ). Beşinci günle birlikte diğer son iki örneklerin pH'larının ise tedrici olarak yükseldiği ilk verilere ulaştığı gözlenmiştir (Şekil 4.4.1.)



**Şekil 4.13.** Koyunlarda açlık ketozisine bağlı idrar keton düzeylerindeki değişimler

İdrar keton düzeyleri açlık ketozisinin oluşmasıyla birlikte ikinci günlerden sonra belirgin oranda görülmeye başladı. Birinci ve ikinci grupta 5. gün bu değerlerdeki istatistiksel açıdan anlamlı yükselmeler devam etmesine rağmen, grup III verilerinin tamamen zıt yönde önemli oranda azalan bir seyir takip ederek son iki örneklemede bu grupta idrarda keton belirlenemedi.



Şekil 4.14. Koyunlarda açlık ketozisine bağlı idrar glikoz düzeylerindeki değişimler

Phlorizinin etkisi bariz olarak glikoz ve keton düzeylerinde görüldü. Bu etki sonucunda birinci ve ikinci günlerde idrar glikoz düzeyleri yükseldi. Kontrol grubunda 2. Günden sonra glikoz belirlenememesine rağmen diğer gruplarda 3. ve 4. gün ile dekstroze verilen koyunların 5. gün alınan idrar örneklerinde dahi glikoz  $1.5 \pm 0.7$  + düzeyinde oluştu. İdrar keton düzeyleri giderek artış gösterdi. Kontrol grubunda 6. güne kadar keton cisimciği idrarda mevcut iken, dekstroze verilenlerde son güne kadar azalarak varlığını koruyan bu idrar parametresi son grupta ise 5. günden sonra gözlenmedi.

## 5. TARTIşMA VE SONUÇ

Koyun gebelik toksemisi sığırın ketozisinde olduğu gibi yetersiz kalori veya enerji alımı gibi benzer bir mekanizma ile başlatılmaktadır. Bu nedenle sığır ve koyunlarda açlık ketozisi denemeleri ile her iki hastalığın patogenezisindeki benzerlik ve ayrılan noktaların ortaya konulması amacıyla ilk erken denemeler 90 yıl kadar önce rapor edilmiştir (24, 139). Thus Sjollema ve Van der Zande 1923 yılında ineklerin bir takım hastalık şartları altında olmadığı sürece çok fazla miktarda kolayca aseton üretemeyeceğini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Carpenter 1927’de ruminantların açlık ketozisine oldukça dirençli olduklarını ortaya koymuştur. Bununla birlikte daha sonraları Forbes 1943’de uzun süreli dönemler içerisinde yetersiz rasyon temin edilen laktasyondaki ineklerde kan keton cisimlerinde bir artış olduğunu iddia etmiş ve 1950’de hem Carlstrom hem de Holmes postpartum dönemde açlığa maruz bırakılan ineklerde keton cisimlerinin belirgin idrar atılımlarının olduğunu ifade etmişlerdir. Benzer şekilde 1940 yılında Sampson ve Boley ile 1943 yılında Clark, Groenewald ve Malan ileri gebe koyunlarda açlık ketozisini oluşturmuşlar ve sonraki çalışmalarda gebe olmayan koyunlarda da uzun süreli yetersiz rasyonlarla besleme sonucunda açlık ketozisini gerçekleştirmişlerdir (139).

Bu doktora tezi çalışmasında yukarıdaki ve daha güncel kaynaklar ışığında koyun modelinde açlık ketozisi deneysel yolla oluşturulmuş, bu model üzerinde TPLE'nın tedavi etkinliği metabolik parametreler ışığında incelenmiştir. Çalışmada öncelikle hedeflenen değişiklikler; koyunlarda 100 mg/kg dozunda 3 gün süreyle derialtı kullanılan phlorizin ile eşzamanlı uygulanan gıda sınırlamasının etkilerini ve ortaya çıkardığı metabolik değişiklikleri belirlemektir. Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara göre özellikle phlorizinin glikozüri oluşturmada, yem kısıtlaması ile hipoglisemi ve yağ mobilizasyonlarının olduğu bu denemeler sonucunda belirlendi (Tablo 4.6). Bu sayede koyunlarda 3 gün süresince günlük deri altı phlorizin (100 mg/kg) enjeksiyonu ve yem kısıtlaması ile 4. günde idrarda keton cisimlerinin varlığı ve glikozüri nedeniyle ketozis oluşturulabileceği değerlendirildi. Bu bulgular özellikle tüm gruplardaki ortalama BHB düzeylerindeki 4. güne kadar olan tedrici fakat istatistiksel açıdan önemli bulunmayan artışlarla da desteklendi (Tablo 4.2). Tedavi öncesi saatlerde 0. saatten sonra şekillenilen glikozüri ve hipoglisemi ile ortalama BHB düzeyi değişimleri ruminantlarda deneysel yolla oluşturulan ketozis çalışmalarında elde edilen bulgularla benzerlik gösterdi (139,142,143).

Koyunlarda denemenin başlamasından sonra klinik ketozise ait belirtilere benzer belirtiler de gözlenmiştir (34,35). Açlık ketozisine ait belirtilerin koyunlarda gebelik toksemisinde gözlenen klinik bulgular olduğu belirlendi. Gebelik toksemisinde Klinik bulgular sinirsel ve diğer bulgular şeklinde ikiye ayrılır. Sinirsel belirtiler dışında depresyon, ataksi ve inkoordinasyon tabloları da bulunabilir (58, 60). Diğer belirtiler ise koyunlarda konstipasyon, dış gıcırdatma, nefeste keton-aseton kokusudur. Son dönemlerde koyunlar yatar ve koma hali alırlar ve 4-7 gün içinde ölüme sürüklenirler. Jeffrey ve Higgins (61) koyunlarda doğal olarak oluşan gebelik toksemisi vakalarında beyin lezyonları içerisinde astrositik nükleer şişme, hipertrofi proliferation, serebrokortikal nekroz, Purkinje hücre nekrozisi, serebral and serebellar sub-kortikal beyaz maddenin vakuolleşmesini belirlemişlerdir. Sinirsel semptomların oluşumunda yukarıdaki değişikliklerin etkili olduğu söylenebilir. Bu çalışmada nekropsi yapılmadığı için beyin veya diğer organlardaki histopatolojik değişiklikler belirlenmemiştir. Elde edilen klinik bulguların, gebelik toksemisi bulunan koyunların semptomlarına benzer olduğu görülmüştür.

Sığır ketozisi olarak bilinen doğum sonrası yetersiz enerji girişi sonucunda oluşan hastalığın koyunlardaki benzeri gebe koyunlarda doğuma yakın dönemde görülen gebelik toksemisidir (35-37). Gebelik toksemisinin teşhisi laboratuvar bulguları ile yapılabilir. Bireysel damızlık koyunlarda hipoglisemi (çoğunlukla  $< 2$  mmol/L), yüksek keton düzeyleri; özellikle yüksek BHB düzeyleri (normal  $< 0.8$  mmol/L, subklinik ketozis  $> 0.8$  mmol/L ve klinik hastalık ise  $> 3.0$  mmol/L) nin olduğu bildirilmektedir (140). Panousis ve ark. (141) koyunlarda bir el analiz cihazı ve laboratuvar analizleri ile karşılaştırdıkları BHB düzeylerini belirleyen çalışmalarında, tüm dönemlerde BHB konsantrasyonlarının 0.1-5.4 mmol/L, kuru dönemde ise 0.3-5.1 mmol/L aralıklarında olduğunu belirlemişlerdir. Phlorizin verilmeden önce üç gruptaki tüm değerlerin ve tedavi sonrası değerlerin yukarıdaki çalışmanın sonuçları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2). Bu benzer sonuçların çalışmada kullanılan koyunların laktasyon ya da gebelik döneminde olmaması ile yorumlanabilir. Bu çalışmada deneysel oluşturulan koyun ketozisinde çalışmanın 2. ve 3. günlerinde 3 mmol/L nin üzerindeki hafif düzeyli artışların hayvanlardaki halsizlik, amaçsız dolaşma, bitkinlik ve dış gıcırdatma gibi klinik bulgularla birleştirilince yukarıdaki literatür bilgide verilen ifade ile uyumlu olduğu söylenebilir. Gebeliğin sonlarına doğru büyüyen iki ve daha fazla kuzu taşıyan koyunlarda, tek kuzu taşıyanlardan daha yüksek düzeyde keton cisimleri ile düşük plazma glikoz ve insülin oranları rapor edilmiştir (55, 60, 66, 67). Hastalığın gelişiminde hiperketonemi ile birlikte bulunan hipokalseminin de etkili olduğu belirlenmiştir (68).

İlk kez 1835 yılında, Fransız kimyagerler tarafından elma ağacı kabuğundan izole edilen phlorizin (glukoz, 1- [2 - (beta.D-glikopiranoziloksi) -4,6-dihidroksifenil] -3 (4-hidroksifenil)-1-propanon) The Merck'in daha sonraki baskılarında; 1.0 g'dan daha büyük dozlarda glikozüri oluşturduğu, 1886 yılında von Mering tarafından yapılan bir gözlemle kaydedilmiştir. Phlorizin'in glikozüri oluşturduğu gözlemiyle eşzamanlı olarak, diabetes mellitus'un yapısal bir böbrek hastalığı olduğu, en önemli belirtecinin poliüri ve idrarda kalıcı şeker atılımı olacağı belirtilmiştir. Diabetes mellitus ve phlorizin'in idrar üzerindeki etkileri arasındaki benzerlikler üzerinde gözlemlerin uzatılması ve Phlorizin'in köpeklerle uzun süreli verilmesi sonucunda sadece glikozüri oluşturmadığı, poliüri ve ağırlık kaybına yol açarak, insanlardaki hastalık belirtilerini taklit ettiğine dikkat etmişlerdir (82,83,86). Bu çalışmada kullanılan tüm koyunlarda

yukarıdaki açıklamalarla paralel biçimde phlorizin uygulama süresi boyunca sık idrar yapma ve belirgin kilo kaybı açlık ketozisi oluşturulan koyunlarda gözlenmiştir.

Gebelikte artan enerji ihtiyacının karşılanabilmesi için kan glikoz düzeyi yaklaşık % 40 oranında azalma gösterir. Gebelik toksemisi, ketozis ve karaciğer yağlanması gibi, ruminantların yağ ve karbonhidrat metabolizması bozukluklarında kan glikoz ve trigliserid değişimlerinin belirlenmesi önemlidir (58,59).

Gebelik toksemisinde hipoglisemi sürekli devam eden bir bulgu değildir. Vakaların % 40 kadarı normal glikoz düzeyine sahip iken, % 20 kadarı ise hiperglisemiye sahip vakalardan oluşur. Eğer teşhiste şüpheye düşülürse daha ileri bir değerlendirme ihtiyacı için Serebrospinal sıvının (SSS) glikoz değerlerini belirlemek kandaki analizlerinden daha çok geçerli olabilir. İlerlemiş vakalarda fetal ölümlerden sonra serum glikoz düzeyleri yeniden arttığı zaman, MSS glikoz düzeyleri düşecektir (70-73, 140). Bu çalışmada ortalama serum glikoz konsantrasyonları özellikle phlorizin verilmesiyle birlikte 0. saat ortalamalarına göre önemli oranda azalmıştır ( $p<0.05$ ). Üç gün süreyle gıda alımındaki sınırlamanın ve phlorizin enjeksiyonlarına bağlı 2. gün her üç grupta glikoz düzeylerindeki azalma belirlenmiş, fakat 3. ve 4. günlerde ise tedrici artışların phlorizinin böbreklerdeki glikoz atılımından bağımsız biçimde glikoneogenetik mekanizmanın aktive edilmesi sonucu oluştuğunu düşünülmüştür. Tedavilere başlanması ile birlikte grup I hariç diğer gruplarda serum glikoz ortalamaları artmıştır. Bununla birlikte bu artışlar tedavi amacıyla TPLe verilen koyunlarda dekstroze ve serum izotonik verilen gruplardan çok daha fazla oranda şekillenmiştir (Tablo 4.6). Çalışmada özellikle 2. gün glikoz konsantrasyonu ortalamalarının tüm gruplarda düşük olması ve bir hipoglisemiye göstermesi açlık ve phlorizinin etkinliğinin belirgin göstergesidir.

Açlık ve phlorizin uygulaması ile açlık ketozisi oluşturulan koyunlarda; Phlorizin enjeksiyonunun, glikozun kinetik metabolizmasını etkileyerek glikozuri ve ketonemiye neden olduğu, glikozun renal tubular reabsorpsiyonunun hem kompetatif hemde non kompetatif inhibisyonu sonucu glikozurinin şekillendiği bildirilmiştir. Koyun ve keçilerde Phlorizin enjeksiyonundan sonra hipoglisemi, glikozuri, ketonemi ve FFA miktarında artışların olduğu tesbit edilmiştir (51,142,143). Serbest yağ asidi konsantrasyonundaki artışın nedeni, idrar yoluyla atılan glikozun, total kan şekeri düzeyinde yetersizliğe neden olması sonucu hipoinsülinemi ile birlikte adipoz dokudaki yağların mobilizasyonuna bağlanır. Gaal ve ark. (38) gebe olmayan merinos koyunlar

üzerinde yaptıkları bir çalışmada 3 gün aç bırakılan bu koyunların kan glikoz değerlerinde ciddi bir azalma, plazma serbest yağ asitleri, total lipid, kolesterol, üre düzeyinde önemli artışların açlık periyodu süresince oluştuğunu rapor etmişlerdir. Benzer bulgular Ranaweera ve ark. (39)'nın yaptıkları çalışmalarda da elde edilmiştir. Bu tez projesinin bulguları da yukarıdaki çalışmaları (38,39) destekler niteliktedir.

Kontrol grubu ortalama NEFA konsantrasyonları son 3 örnekleme gününde 0. saate göre kademeli şekilde azalma eğilimindeydi. Damar içi TPLE grubunda (grup II) Ortalama NEFA düzeyleri TPLE verildikten sonraki 4. gün 2. ve 6. saat değerlerinde diğer saatlerdeki verilerden istatistikî açıdan önemli oranda ( $p<0.05$ ) yüksek bulundu. Dekstroz verilenlerde ise bu gruptan farklı biçimde aynı saatlerde diğer saatlere göre düşme eğiliminde idi. Ortalama NEFA düzeyleri tedavi etkinliğine bağlı olarak aynı saatlerde hem kontrol hem de damar içi TPLE grubuna göre dekstroz grubunda daha düşük olarak belirlenmişti. Serum veya plazma NEFA ve BHB konsantrasyonları periparturient dönemde bulunan süt ineklerinde oldukça fazla sayıda çalışmada analiz edilmiştir (26,32,35,48,50). Yüksek NEFA konsantrasyonları kuru dönem sonunda ( $\geq 0.4$  mEq/L) ve laktasyon periyodunda ( $\geq 0.6$  mEq/L) bir çok periparturient hastalık riskinin ortaya çıkmasıyla ilişkilidir. Prepartum BHB konsantrasyonları hastalıklar için önceden belirleyici özellik taşımaz. Bununla birlikte postpartum konsantrasyonlar hastalık riski için çok duyarlı indikatörlerdir. Subklinik ketozis BHB konsantrasyonlarının 12.5 veya 14.5 mg/dL (1190 veya 1390  $\mu\text{mol/L}$ ) ulaşması ile tanımlanmıştır. Buna rağmen 10 mg/dl (0.96 mmol/L) ve daha yüksek düzeydeki BHB konsantrasyonları bazı postpartum hastalık bulunan ineklerde yüksek risk tablosu ile ilişkilidir (48,140).

Koyunlarda kan glikoz düzeylerine göre BHB hastalığın şiddeti için daha güvenilir bir indikatördür. Esterleşmemiş yağ asidi düzeyleri de hepatik fonksiyonların ortadan kalkması ile sonuçlanan hepatik lipidozisin göstergesi olarak 0.4 mmol/L'nin üzerine yükselebilir (140).

Çalışmada ortalama BHB konsantrasyonları deneme süresince özellikle grup I ve grup III de birbirine paralel seyretmekle birlikte, grup II de önceki gruplardan bir miktar ayrılmalar belirlenmiş fakat bu farklılıklar anlamlı bulunmamıştır. Gruplarda ikinci ve 3. günlerde önceki değerlere göre serum BHB düzeyleri sayısal olarak artışlar tarzında değişikliğe uğramıştır. Çok anlamlı olmamakla birlikte rakamsal artışlar hastalığın

şiddeti ile doğru orantılı olan bu parametrenin bu çalışmada kısmen etkilenmesi phlorizinin dozunun arttırılması veya açlık ile birlikte daha uzun süreli kullanımlarında daha belirgin artışlarla seyredeceğini düşündürmektedir.

Kontrol grubu ortalama NEFA konsantrasyonları son 3 örnekleme gününde (5., 6. ve 7. gün) 0. saate göre kademeli şekilde azalma eğilimindeydi. Damar içi İL grubunda Ortalama NEFA düzeyleri 4. gün 2. ve 6. saat değerlerinde diğer saatlerdeki verilerden istatistiki açıdan önemli oranda ( $p<0.05$ ) yüksek bulundu. Dekstroz verilenlerde ise aynı saatlerde diğer saatlere göre düşme eğiliminde idi. Ortalama NEFA düzeyleri tedavi etkinliğine bağlı olarak aynı saatlerde hem kontrol hem de damar içi İL grubuna göre dekstroz grubunda daha düşük olarak belirlendi. Grup III deki belirgin artışların lipit emülsiyonların etkisi ile yağ asiti düzeylerindeki artıştan kaynaklandığı, dekstroz verilenlerde ise bu uygulamanın olumlu bir etkisinden ileri gelebileceği düşünülmüştür.

Parenteral beslemede kullanılan lipit emülsiyonlarının bir takım yan etkileri olabileceği bildirilmektedir. Bu etkiler erken ve geç gelişen reaksiyonlar olarak iki ana başlıkta toplanmaktadır. Erken reaksiyonlar; insanların %1'inden daha azında görülen; dispne, siyanoz, allerjik deri bulguları, bulantı, kusma, baş ve sırt ağrısı, flaşing, terleme, ateş, baş dönmesi ve infüzyon yerinde lokal yangı gibi bulgulardır. Hiperkoagülabilité ve trombositopeni de bildirilmiştir. Gecikmiş reaksiyonlar ise; hepatomegali, sarılık, splenomegali, trombositopeni, lökopeni ve karaciğer enzimlerinde hafif yükselme bulgularını içerir (10).

Bu çalışmada ise TPLE verilmesini takiben ortaya çıkan en dikkat çekici reaksiyon vücut sıcaklığında artışlar olmuştur. Lipit emülsiyonunun verilmesini takiben ilk 1 saat içerisinde yaklaşık 40 °C geçici ateş yükselmesi ve terleme tüm koyunlarda belirlenmiştir. Bu tablonun TPLE verilmesi sonucunda koyunların metabolik hızlarında oluşan artıştan kaynaklandığı söylenebilir. Bunun diğer bir göstergesi de TPLE verilmesinin durdurulması ile birlikte ateş de normal düzeylerine inmiştir. Erken reaksiyonların insan hastaların % 1 inden daha azında görüleceği bildirilmesine rağmen yüksek ateş ve terleme koyunların tamamında belirlenmiştir. Diğer erken reaksiyonlar belirlenmemiştir. Gerek denemenin süresi gerekse tek doz TPLE nın uygulanması nedeniyle yukarıda bahsedilen geç reaksiyonlar gözlenmemiştir. Parenteral lipid solusyonları ile besleme sonucunda hiperglisemi ve hiperlipidemi yaygın değişikliklerdir. Bu bakımdan parenteral beslenme alan hastaların (özellikle taylor) kan

şekeri konsantrasyonlarını izlemek önemlidir. Lipit emülsiyonları ile yapılan çalışmalarda hiperglisemi önemli bir değişikliktir. Özellikle atlarda 200 mg/dL gibi yüksek düzeylere ulaşan glikoz düzeyleri nedeniyle geçici beslenme yönetiminin oranının azaltılması ve daha düşük karbonhidrat verilmesi tavsiye edilmektedir (132).

Bu çalışmada ruminantlarda karaciğer fonksiyonlarını belirlemek için karaciğer spesifik enzimlerden AST ve ALP aktiviteleri belirlendi. Gebelik toksemili koyunlarda karaciğer fonksiyonları oluşan lipidozis nedeniyle etkilenebilmektedir. Kronfeld ve Raggi (63) aç gebe koyunlar ile doğal gebelik toksemisi vakalarında karaciğerdeki nicotinamide koenzimlerinin azaldığını belirlemişlerdir. Wastney ve ark. (64) gebelik toksemisinin azalmış hepatik glukoneogenesis ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada belirtilen karaciğer enzimlerindeki artış oranları gözlenmiştir. Ortalama AST aktiviteleri 4. gün 2. saat, 5. ve 6. gün verilerinde damar içi TPLE verilen koyun grubunda 0. saat verisinden yüksek olduğu görüldü. Aynı grupta 4. gün 2. saatte ortalama AST aktivitesi hem dekstroza hem de kontrol gruplarından istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek belirlendi. Grup I, II ve III de ortalama GGT değerlerinde açlık ve phlorizin uygulaması ile artış şeklinde değişimler belirlendi. Ayrıca grup III de 4. gün 6. saat ve 5. gün verilerinin diğer grupların aynı saat verilerinden istatistiksel açıdan önemli oranda ( $p<0.05$ ) daha yüksek olmakla birlikte grup III deki bu artışların da koyunlarda GGT düzeyleri için rapor edilen normal sınırlar içerisinde belirlendi. Aslan ve ark. (41) yukarıdaki karaciğer enzim artışları ile uyumlu biçimde, deneysel ketozis oluşturdukları koyunlarda klinik hastalık tablosu ile beraber AST aktivitesinde artışın şekillendiğini, kan şekerinin ise düştüğünü belirlemişlerdir. Ortalama ALP aktiviteleri ise denemenin başlaması ile birlikte tüm gruplarda 0. saat verilerine göre istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek seyretmiştir. Bununla beraber dekstroza ya da damar içi lipit emülsiyonu ile tedavi edilen gruplar arasında fark belirlenmedi. Tüm ortalama ALP aktiviteleri koyunlar için bildirilen referans değer aralıklarında izlendi.

Karaciğer enzim düzeyi artışlarının özellikle AST aktivitesinin yukarıdaki literatürde (41) belirtilen ifade ile uyumlu olduğu değerlendirildi. Bu artışın özellikle bir hepatosit hasarından daha çok lipit emülsiyonuna bağlı hepatosit aktivite artışından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bununla birlikte karaciğer ebatlarında bir büyüme özellikle gecikmiş dönemlerde uzun süreli lipit emülsiyonu tedavilerinde gözlenebilen bir durumdur. Özellikle yağ

akümülyasyonlarına bağlı oluşabılen bu durum çalışmada gözlenmemiştir. Tek doz (200 ml) verilen TPLE nun böyle bir uzun dönem etkisi bu çalışma için söz konusu değildir.

Gıda alımının durdurulmasına bağlı 0. saatten sonraki ortalama trigliserit konsantrasyonları önemli oranda azaldı. Dekstroz grubunda ortalama trigliserit düzeyleri 4. gün 6. saat verilerinden itibaren önceki verilere göre azalma eğiliminde olmasına rağmen, damar içi TPLE grubunda 4. gün 2. saatten itibaren 5. günde dahil olmak üzere diğer saatlerde alınan değerlerden anlamlı oranda yüksek olduğu görüldü. Aynı saatlerdeki bu değerler diğer grupların aynı saat verilerinden de önemli oranda yüksekti ( $p<0.05$ ). Grup III'ün yüksek belirlenen ortalama trigliserit verileri parenteral besleme yapılan atlardaki artış gösteren trigliserit düzeyleri bilgisi ile paralel olduğu görülmüştür (135,136).

Bu çalışmadan elde edilen genel sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1. Gebe olmayan koyunlarda 4 gün süreyle yem kısıtlaması yapılan ve 100 mg/kg phlorizin enjeksiyonları sonucunda klinik belirtiler, kan ve idrarın biyokimyasal sonuçlarına göre kısmi bir açlık ketozisi oluşturulmuştur.
2. Açlık ketozisi oluşturulan gebe olmayan koyunlarda % 20'lik 200 ml TPLE'nın kısa dönem etkilerinden hipertermi ve hafif sinirsel belirtiler dışında belirgin herhangi bir yan etkiye rastlanmamıştır.
3. Açlık ketozisi oluşturulan gebe olmayan koyunlarda % 20'lik 200 ml TPLE'nın açlık ketozisine ait klinik belirtileri engelleyebildiği, kanın biyokimyasal sonuçlarından düşmüş olan glikoz ve trigliserit düzeylerinde geçici bir artış sağlayarak olumlu etki yapmakla birlikte bu uygulamanın NEFA, AST ve GGT düzeylerini arttırarak olumsuz sayılabilecek etkilere yol açabildiği belirlenmiştir.

Yukarıdaki sonuçlar göz önüne alındığında bu çalışmanın hipotezi içerisinde yer alan TPLE'nın ruminantlardaki etkilerinin daha iyi gözlenebilmesi için açlık ve phlorizin uygulamalarının ileri gebe koyunlarda denenmesinin daha uygun olacağı,

Açlık ketozisinin etkilerini bu hayvanlarda gözlemek için daha uzun süreli yem kısıtlamalarının yapılmasına,

TPLE'nın yan etkilerinin daha az yansması için % 20 lik TPLE emülsiyonları yerine % 10'luk konsantrasyonlarının da denenmesine, bu solusyonların faydalı olabileceği hipotezlerine yönelik olarak tedavi etkinliğinin daha net olarak ortaya konulabilmesi

için ruminantlarda insülin düzeylerinin de belirlenmesi gerekliliği nedeniyle ileri çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

## **6. KAYNAKLAR**

1. Bergman EN. Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia and ketosis. Am. J. Physiol. 1973; 215: 865-873
2. Everts H, Kuiper H. Energy intake and pregnancy toxemia in prolific ewes. Fifth International Conference on Production Diseases in Farm Animals, 133-136, 1983, Uppsala, Sweden
3. Pethick DW, Lindsay DB. Metabolism of ketone bodies in pregnant sheep. Br. J. Nutr. 1982; 48: 549-563
4. Baird GD, Heitzman RJ, Hibbitt KG. Effects of starvation on intermediary metabolism in the lactating cow. Biochem. J. 1972; 128, 1311
5. Bergman EN. Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia and ketosis. Am. J. Physiol. 1973; 215: 865-873
6. Baird GD, Hibbitt KG, Hunter GD. Biochemical aspects of bovine ketosis Biochem. J. 1968; 107: 683-683
7. Bickhardt K, Henze P, Sallmann HP. Glucose-Stoffwechselstörungen bei erwachsenen Schafen und ihre Behandlungen. DVG Tagung "Krankheiten Der Kleinen Wiederkäuer, Giessen, 1993: 92–100

8. Henze P, Pickhardt K, Fuhrmann H, Salman HP. Spontaneous pregnancy toxemia (ketosis) in sheep and the role of insulin. *J. Vet. Med.* 1998; A 45:255-266.
9. Waitzberg DL, Torrinhas RS, Jacintho TM. New Parenteral lipid emulsions for clinical use. *J. Parenter Enteral Nutr.* 2006; 30:351-367
10. Gültekin F, Alagözlü H, Nutrisyon Parenteral Beslenme, T Klin Tıp Bilimleri 1993;13: 28-36
11. Laffel L, Ketone Bodies: A Review of Physiology, Pathophysiology and Application of Monitoring to Diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 1999; 15: 412-426.
12. Mitchell GA, Kassovska-Bratinova S, Boukaftane Y, et al. Medical aspects of ketone body metabolism. *Clin Invest Med* 1995; 18: 193-216
13. Nair KS, Welle SL, Halliday D, Campbell RG. Effect of betahydroxybutyrate on whole-body leucine kinetics and fractional mixed skeletal muscle protein synthesis in humans. *J Clin Invest* 1988; 82: 198-205
14. Jain SK, Kannan K, Lim G. Ketosis (acetoacetate) can generate oxygen radicals and cause increased lipid peroxidation and growth inhibition in human endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 1083-1088
15. De Jaeger A, Proulx F, Yandza T, et al. Markers of cellular dysoxia during orthotopic liver transplantation in pigs. *Intensive Care Med* 1998; 24: 268-275
16. Flatt JP. On the maximal possible rate of ketogenesis. *Diabetes* 1972; 21:50-53.
17. Zammit V. Regulation of ketone body metabolism. *Diabetes Reviews* 1994; 2:132-155
18. Pardridge W. Blood-brain barrier transport of glucose, free fatty acids, and ketone bodies. In *Fuel Homeostasis and the Nervous System*, Vranic M, Efendic S, Hollenberg C (eds). Plenum Press, New York, 1991: 43-53
19. McGarry J. Ketogenesis. In *Ellenberg & Rifkin's Diabetes Mellitus*, 5th Edition, Porte D, Sherwin R (eds). McGraw-Hill, New York, 1996:19-28
20. McGarry JD, Woeltje KF, Kuwajima M, Foster DW. Regulation of ketogenesis and the renaissance of carnitine palmitoyltransferase. *Diabetes Metab Rev* 1989; 5: 271-284
21. Carey GB. Mechanisms regulating adipocyte lipolysis. *Adv Exp Med Biol* 1998; 441: 157-170
22. Gwynn RW, Veloso D, Veech RL. The concentration of malonylcoenzyme A and the control of fatty acid synthesis in vivo. *J Biol Chem* 1972; 247: 7325-7331

23. Williamson D. Ketone body production and metabolism in the fetus and newborn. In Fetal and Neonatal Physiology, Polin R, Fox W (eds). WB Saunders Co, Philadelphia, 1992: 330-340
24. Thin C, Robertson A. The Estimation of Acetone Bodies, *Biochem J*, 1952; 51: 218
25. Drackley JK, Zhang Y, Amaral DM, Young JW. Metabolic Effects of Intraruminal Administration of 1,3-Butanediol or Tributyrin in Lactating Goats, *J Dairy Sci*, 1989; 72: 1986-1995
26. Heitmann RN, Dawes DJ, Sensenig SC. Hepatic ketogenesis and peripheral ketone body utilization in the ruminant. *J. Nut.* 1987;1170-1174.
27. McCutcheon SN, Bauman DE. Effect of chronic growth hormone treatment on responses to epinephrine and thyrotropin-releasing hormone in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 1986; 69:44
28. Hibbitt KG. The induction of ketosis in the lactating cow. *J. Dairy Res.* 1966; 33:291.
29. Baird GD, Heitzman RJ, Hibbitt KG. Effects of starvation on intermediary metabolism in the lactating cow. *Biochem. J.* 1972; 128:1311.
30. Ergun H. Çeşitli yaşama payı enerji düzeyinde beslenen danalarda kan keton cisimleri, plazma glikoz ve yağ asiti değerleri ile canlı ağırlığa etkisi (ketozis oluşumu) üzerine araştırmalar, Doçentlik tezi, Ankara Üniv, Ankara 1982 : 25-50
31. Baird GD, Hibbitt KG, Hunter GD. Biochemical aspects of bovine ketosis *Biochem. J.* 1968;107: 683- 683
32. Baird GD, Heitzmaa RJ. Mode of action of a glucocorticoid on bovine intermediary metabolism. Possible role in controlling hepatic ketogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1971; 252:184.
33. Gaál T, Mézes M, Miskucza O, Ribiczey-Szabó P. Effect of fasting on blood lipid peroxidation parameters of sheep. *Res Vet Sci.* 1993;55: 104-107
34. Ranaweera A, Ford EJ, Evans J. Gluconeogenesis from glycerol by ketotic sheep pregnant with twins. *Res Vet Sci.* 1981; 30: 303-808
35. Lyle RR, Deboer G, Mills SE et al. Glucose Kinetics, Plasma Metabolites, and Endocrine Responses During Experimental Ketosis in Steers. *J Dairy Sci* 1984; 67: 2255-2264
36. Aslan V, Aştı RN, Tiftik AM, Eksen M. Effect of niacin on blood metabolites, rumen protozoa, insulin levels and fatty liver in experimentally induced ketosis in ewes. *SÜ Vet Fak Der* 1988;4: 109-121.

37. Başoğlu A, Turgut K, Eksen M ve ark. Effect of phlorihizin-induced ketosis on riboflavin and niacin levels on sheep. SÜ Vet Fak Derg 1993; 9: 58-63
38. Mehlman MA, Therriault DG, Porter W, Stoewsand GS, Dymsha HA. Distribution of lipids in rats fed 1,3-butanediol. J. Nutr. 1966; 88: 215
39. Rosebrough RW, Steele NC, Frobish LT. Effect of ketogenic diets in gestation on some characteristics of carbohydrate metabolism in fetal pig brain and liver. Growth 1981; 45:42
40. Hess GS, Young JW. Preventing and alleviating milk fat depression by feeding 1,3-butanediol to cows. J. Dairy Sci. 1972 ; 55:1097
41. Yoshida M, Osada K, Fujishiro S, Oda R. Nutritive value of 1,2-propanediol di-laurate, di-lauryl succinate and 1,3-butanediol by calves: Application of bioassay technique to ruminants. Agric. Biol. Chem. 1971; 35 : 393
42. Bonner JM, Hess GS, Otchere EO, and Young JW. Physiological effects of 1,3-butanediol fed to cattle. J. Dairy Sci. 1974; 58:56
43. Tate RL, Mehlman MA, Tobin RB. Metabolic fate of 1,3-butanediol in the rat: Conversion to j3-hydroxybutyrate. J. Nutr. 1971; 101: 1719
44. Brazy PC, Dennis VW. Characteristics of glucose-phlorizin interactions in isolated proximal tubules. Am. J. Physiol. 1978; 234: 279
45. Horsburgh T, Cannon JK, Pitts RF. Action of phlorizin on luminal and antiluminal membranes of proximal cells of kidney. Am. J. Physiol. 1978; 234: 485
46. Burtis CA, Jackson HD, Packett LV, Goetsch GD. Effects of epinephrine, hydrocortisone, and thyroxine on phlorizin-induced ketosis in fasted, nonpregnant ewes. Am. J. Vet Res. 1966; 27: 879
47. Lyle RR, Birkmeyer KD, Young JW. In Vitro Hepatic Gluconeogenesis and Ketogenesis As Affected by Prolonged Ketonemia-Glucosuria and Fasting in Steers. J Dairy Sci 1984;67:2283-2293
48. Başoğlu A, Sevinç M. Evcil Hayvanlarda Metabolik ve Endokrin Hastalıklar. Selçuk Üniversitesi Vakfı Konya 2004; 79-92
49. Bilal T , Bilal T. Koyun ve Keçilerin İç Hastalıkları ve Beslenmesi, İstanbul Üniversitesi, Basım ve Yayınevi Md. İstanbul 2005 ; 205-214
50. Bergman EN. Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia and ketosis. Am. J. Physiol, 1973; 215: 865-873

51. Radostits OM, Blood DC, Gay, CC ve ark.: Veterinary Medicine, ed 8. Philadelphia, Bailliere Tindall, 1994; 1345-1347
52. East NE. Pregnancy toxemia, abortions, and periparturient diseases. Vet Clin North Am Large Anim Pract 1983; 5: 601-618
53. Firat A, Ozpinar A. Metabolic profile of pre-pregnancy, pregnancy and early lactation in multiple lambing Sakiz ewes. 1. Changes in plasma glucose, 3-hydroxybutyrate and cortisol levels. Ann Nutr Metab 2002; 46:57-61
54. Everts H, Kuiper H, Energy intake and pregnancy toxemia in prolific ewes. Fifth International Conference on Production Diseases in Farm Animals ,133-136, 1983, Uppsala, Sweden
55. Pethick DW, Lindsay DB. Metabolism of ketone bodies in pregnant sheep. Br. J. Nutr. 1982; 48: 549-563.
56. Scott PR, Sargison ND, Penny CD., Evaluation of recombinant bovine somatotropin in the treatment of ovine pregnancy toxemia. Vet J. 1998; 155:197-99
57. Van Saun RJ. Pregnancy toxemia in a flock of sheep J Am Vet Med Assoc. Nov 2000 ; 15: 1536-1539
58. Ferris TF, Herdson PB, Dunnill MS, Lee MR. Toxemia of pregnancy in sheep: a clinical, physiological, and pathological study. J Clin Invest. Sep; 1969; 48:1643-1655
59. Lacetera N, Bernabucci U, Ronchi B, Nardone A. Effects of subclinical pregnancy toxemia on immune responses in sheep. Am J Vet Res. 2001; 62:1020-1024
60. Marteniuk JV, Herdt TH. Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. Vet Clin North Am Food Anim Pract. Jul 1988; 4: 307-315
61. Jeffrey M, Higgins RJ. Brain lesions of naturally occurring pregnancy toxemia of sheep. Vet Pathol. Jul 1992;29: 301-307
62. Tontis A, Zwahlen R. Pregnancy toxemia of small ruminants with special reference to pathomorphology Tierarztl Prax. 1987; 15: 25-29
63. Kronfeld DS, Raggi F. Irregular plasma glucose concentrations, elevated plasma non-esterified fatty acid concentrations and unchanged glucokinase activities in brain, muscle and liver during pregnancy toxemia in sheep. Res Vet Sci. 1966;7: 493-498
64. Wastney ME, Wolff JE, Bickerstaffe R. Glucose turnover and hepatocyte glucose production of starved and toxemic pregnant sheep. Aust J Biol Sci. 1983; 36: 271-284

65. Rook JS. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000;16: 293-317
66. Sigurdsson, H. The effects of pregnancy and feeding on the insulin and glucose concentration in blood of ewes in late pregnancy. *Acta. Vet. Scand.* 1988; 29: 401-405
67. Harmeyer J, Schlumbohm C. Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: implications for onset of pregnancy toxemia. *Res Vet Sci.* 2006; 81: 254-264
68. Schlumbohm C, Harmeyer J. Hypocalcemia reduces endogenous glucose production in hyperketonemic sheep. *J Dairy Sci.* 2003; 86:1953-1962
69. Buswell JF, Haddy JP, Bywater RJ. Treatment of pregnancy toxemia in sheep using a concentrated oral rehydration solution *Vet Rec* 1986;118: 208-209
70. Wierda A, Verhoeff J, van Dijk S, Dorresteyn J, Wensing T. Effects of trenbolone acetate and propylene glycol on pregnancy toxemia in ewes. *Vet Rec.* 1985;116: 284-287
71. Hunt ER. Treatment of pregnancy toxemia in ewes by induction of parturition. *Aust Vet J.* 1976; 52: 540
72. Scott PR, Sargison ND, Penny CD. Evaluation of recombinant bovine somatotropin in the treatment of ovine pregnancy toxemia. *Vet J.* 1998;155: 197-199
73. Bickhardt K, Henze P, Sallmann HP. Glucose-Stoffwechselstörungen bei erwachsenen Schafen und ihre Behandlungen. DVG Tagung "Krankheiten der Kleinen Wiederkaurer", Giessen, 1993: 92-100
74. Henze P, Pickhardt K, Fuhrmann H, Salman HP. Spontaneous pregnancy toxemia (ketosis) in sheep and the role of insulin. *J. Vet. Med.* 1998; 45: 255-266
75. Maine D. Role of nutrition in the prevention of toxemia. *Am J Clin Nutr.* 2000, 72: 298-300
76. Driscoll DF. Clinical issues regarding the use of total nutrient admixtures. *DICP The Annals of Pharmacotherapy* 1990; 24: 296-303
77. Sayınalp S, Moğultekin N, Kiraz S. Parenteral nutrisyon *Türk İlaç ve Tedavi Dergisi* 1990; 3:281
78. Shanbhogue LKR, Chwals WJ, Weintraub M, et al. Parenteral nutrition in the surgical patient. *Br J Surg* 1987; 74 :172-80
79. Ehrenkranz JRL, Lewis NG, Norman G, Kahn CR, Roth J. Phlorizin: a review, *Diabetes Metab Res Rev* 2005; 21: 31-38

80. Keller DM, Lotspeich WD. Effect of phlorizin on the osmotic behavior of mitochondria in isotonic sucrose. *J Biol Chem.* 1959; 234: 991–994
81. Alvarado FC, Crane RK. Phlorizin as a competitive inhibitor of the active transport of sugars by hamster small intestine in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1962; 56: 170–172
82. Vick HD, Deidrich DF. Reevaluation of renal tubular glucose transport inhibition by phlorizin analogs. *Am J Physiol* 1973; 224: 552–557
83. Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action. *N Engl J Med* 1999; 341: 248–256
84. Stuart IS, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr* 2003; 89: 3–9
85. Mackenzie B, Loo DDR, Wright EM. Relationships between Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter (SGLT1) currents and fluxes. *J Membr Biol* 1998; 162: 101–106
86. Lee WS, Wells RG, Hediger MA. The high affinity Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter. Re-evaluation and distribution of expression. *J Biol Chem* 1994; 269: 12032–12039
87. You G, Lee WS, Barros EJ, et al. Molecular characteristics of Na<sup>+</sup>-coupled glucose transporters in adult and embryonic rat kidney. *J Biol Chem* 1995; 270: 29365–29371
88. Amsler K, Cook J. Development of a Na-dependent hexose transport in a cultured line of porcine kidney cells. *Am J Physiol* 1982; 242: 94–101
89. Wright EM. Renal Na<sup>+</sup>-glucose cotransporters. *Am J Physiol* 2001; 280: 10–18
90. Mackenzie B, Loo DDR, Panayotova-Heiermann M, Wright EM. Biophysical characteristics of the pig kidney Na<sup>+</sup>-glucose cotransporter SGLT2 reveal a common mechanism for SGLT1 and SGLT2. *J Biol Chem* 1996; 271: 32 678–32 683
91. Turk E, Martin MG, Wright EM. Structure of the human Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter gene SGLT1. *J Biol Chem* 1994; 269: 15 204–15 209
92. Mackenzie B, Panayotova-Heiermann M, Loo DDR, Lever JE, Wright EM. SAAT1 is a low affinity Na<sup>+</sup>/glucose transporter and not an amino acid transporter. A reappraisal. *J Biol Chem* 1994; 269: 22 488–22 491
93. Ishikawa Y, Eguchi T, Ishida H. Mechanism of B-adrenergic agonist – induced transmural transport of glucose in rat small intestine. Regulation of phosphorylation of SGLT1 controls the function. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1357: 306–318

94. Lazaridis KN, Pham L, Vroman B, De Groen PC, LaRusso NF. Kinetic and molecular identification of sodium-dependent glucose transporter in normal rat cholangiocytes. *Am J Physiol* 1997; 272: 1168–1174
95. Bindslev N, Hirayama BA, Wright EM. Na/D-glucose cotransport and SGLT1 expression in Hen colon correlates with dietary Na<sup>+</sup>. *Comp Biochem Physiol* 1997; 118: 219–227
96. Shirazi-Beechey S, Hirayama B, Wang Y, et al. Ontogenetic development of lamb intestinal sodiumglucose co-transporter is regulated by diet. *J Physiol* 1991; 437: 669–708
97. Turk EM, Kerner CJ, Lostao MP, Wright EM. Membrane topology of the brain Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter. *J Biol Chem* 1996; 271: 1925–1934
98. Morrison AL, Panayotova-Heiermann M, Feigl G, Scholermann B, Kinne RK. Sequence comparison of the sodium-Dglucose cotransport systems in rabbit, renal, and intestinal epithelium. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1089: 121–123
99. Hediger MA, Budarf ML, Emanuel BS, Mohandas TK, Wright EM. Assignment of the human intestinal Na/glucose gene (SGLT1) to the q11.2 region of chromosome 22. *Genomics* 1989; 4: 297–300
100. Turk E, Martin MG, Weight EM. Structure of the human Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter gene SGLT1. *J Biol Chem* 1994; 269: 15 204–15 209
101. Well RG, Mohandas TK, Hediger MA. Localization of the Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter gene SGLT2 to human chromosome 16 close to the centromere. *Genomics* 1993; 17: 787–789
102. Hediger M, Turk E, Wright E. Homology of the human intestinal Na/glucose and *Escherichia coli* Na/proline cotransporters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 5748–5752
103. Panayotova-Heiermann M, Tuck E, Zampighi GA, Wright EM. Five transmembrane helices form the sugar pathway through the Na/glucose cotransporter. *J Biol Chem* 1997; 272: 20324–20327
104. Hutchinson A, Taper C, Towers G. Studies of phloridzin in malus. *Can J Med Sci* 1959; 37: 901–910
105. Grochowska MJ. Studies on natural growth regulators in apple trees in relation to biennial bearing. *Bull Acad Pol Sci* 1963; 9: 585–590
106. Hancock CR, Harlow WB, Lacey HJ. The behaviour of phloridzin in the coleoptile straight-growth test. *J Exp Bot* 1961; 12: 401–408

107. Noveroske RL, Williams EB, Kue J. B-glycosidase and phenoloxidase in apple leaves and their possible relation to resistance to venturia inaequalis. *Phytopathology* 1964; 54: 98–103
108. Ridgway T. Phloridzin derivatives: food additives/chemopreventative drugs of the future. *Biochem Soc Trans* 1997; 25: 109
109. Whiting GC. Estimation of the monomeric phenolics of ciders. *J Sci Food Agric* 1975; 26: 1833–1838
110. Bremner PD, Blacklock C, Paganga G, Mullen W, Rice-Evans C, Crozier A. Comparison of the phenolic composition of fruit juices by single step gradient HPLC analysis of multiple chromatographic runs optimized for individual families. *Free Radic Res* 2000; 32: 549–559
111. Escarpa A, Gonzalez M. High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. *J Chromatogr* 1998; 823: 331–337.
112. Robak J, Gryglewski R. Flavonoids are scavengers of superoxide anion. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 83–88
113. Rosetti L, Shulman GI, Papachristou D, DeFronzo RA. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. *J Clin Invest* 1987; 79:1510–1515
114. Rosetti L, Zawulich W, DeFronzo RA. Effect of chronic hyperglycemia on in vivo insulin secretion in partially pancreatectomized rats. *J Clin Invest* 1987; 80: 1037–1044
115. Kahn BB, DeFronzo RA, Cushman SW, Rossetti L. Normalization of blood glucose in diabetic rats with phlorizin treatment reverses insulin-resistant glucose transport in adipose cells without restoring glucose transporter gene expression. *J Clin Invest* 1991; 87: 561–570
116. Baron AD, Weldon H, Maianu L, Garvery WT. Glucosamine induces insulin resistance in vivo by affecting GLUT 4 translocation in skeletal muscle. *J Clin Invest* 1995; 96: 2792–2801.
117. Boileau P, Girard J, Mouzon S. Overexpression of GLUT3 placental glucose transporter in diabetic rats. *J Clin Invest* 1995; 96: 309–317
118. Barrera-Hernandez G, Wong CW. Phlorizin or vanadate treatment reverses impaired expression of albumin and hepatocyte nuclear factor 1 in diabetic rats. *Diabetes* 1996; 45: 1217–1222.

119. Burcelin R, Decaux J, Mouzon S, Girard J, Charron M. In vivo and in vitro regulation of hepatic glucagon receptor mRNA concentration by glucose metabolism. *J Biol Chem* 1998; 273: 8088–8093.
120. Risher S, Shi ZQ, Bilinski D, et al. Insulin-independent acute restoration of euglycemia normalizes the impaired glucose clearance during exercise in diabetic dogs. *Diabetes* 1997; 46: 1805–1812.
121. Takii H, Kometani T, Okada S, Fushiki T. Lowering effect of phenolic glycosides on the rise in postprandial glucose in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 1997; 61: 1531–1535.
122. Matsuoka T, Nishizaki T, Kisby GE. Na<sup>+</sup>-dependent and phlorizin inhibitable transport of glucose and cycasin in brain endothelial cells. *J Neurochem* 1998; 70: 772–777.
123. Singleton VL, Kratzer FH. Toxicity and related physiological activity of phenolic substances of plant origin. *J Agric Food Chem* 1969; 17: 497–512.
124. Vallon V, Richter K, Blantz R, Thomson S, Osswald H. Glomerular hyperfiltration in experimental diabetes mellitus: potential role of tubular reabsorption. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2569–2576.
125. Serrano Rios M. Renal diabetes (primary renal glycosuria): A short review. *Verh Dtsh Ges Inn Med* 1987; 93: 512–516.
126. Desjeux J-F. Congenital Selective Na<sup>+</sup>, D-Glucose cotransport Defects Leading to Renal Glycosuria and Congenital Selective Intestinal Malabsorption of Glucose and Galactose. In *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) (6th Edition), McGraw-Hill: NY, 1989; 2471–2476.
127. Lestradet H, Labrune B, Duval C, Deschamps I. Le diabete renal. A propos de 103 observations chez L'enfant. *Arch Fr Pediatr* 1979; 36: 760–766.
128. Locke W. Differential diagnosis of hyperglycemia and melituria. *J Mich State Med Soc* 1960; 59: 1528–1532.
129. Divers TJ. Partial and total parenteral nutrition. In: White NA, Moore JN, ed. *Techniques in equine surgery and lameness*, 2nd. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1998; 19-21.
130. Spurlock SL, Ward MV. Parenteral nutrition in equine patients: principles and theory. *Compend Contin Educ Pract* 1991; 13:461-467.
131. Tillotson K, Traub-Dargatz JL, Morgan PK. Partial parenteral nutrition in equine neonatal clostridial enterocolitis. *Compend Contin Educ Pract* 2002; 24:964-969.

132. Bercier D L, How to Use Parenteral Nutrition in Practice 49th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 2003, New Orleans, Louisiana, (Ed.). 1-6
133. Dunagan WC, Rinder ML. Manual of Medical Therapeutics. Çev.Pınar T. Ankara: Türdav Basım ve Yayım Tic AŞ, 1991:37-53
134. Naylor JM , Kenyon SJ. Effect of total caloric deprivation on host defense in the horse. Res Vet Sci 1981;31: 369-372
135. Rooney DK. Nutritional support of the sick horse. In: Equine Internal Medicine, Eds: S. Reed and W.M. Bayly, W.B. Saunders Co, Philadelphia. 1998: 234-250
136. Hansen TO, White NA, Kemp DT. Total parenteral nutrition in four healthy adult horses. Am J Vet Res 1988; 49:122-124
137. Murray EZ, Freeman LM. Peripheral parenteral nutrition. Compend Contin Educ Pract 1999; 21:512-515
138. Lopes MA F, White NA, Parenteral nutrition for horses with gastrointestinal disease: a retrospective study of 79 cases. Equine Vet. J. 2002; 34: 250-257
139. Robertson A, Thin C. A Study of Starvation Ketosis in the Ruminant. Brit J Nutr 1953; 7: 181-195
140. Aiello SE, Mays A, Metabolic Disorders, The Merck Veterinary Manual, 8th Edt.Merck and Co, Inc., Philadelphia, 1997: p 723-747
141. Panousis N, Brozos Ch, Karagiannis ND et al. Evaluation of Precision Xceed meter for on-site monitoring of blood  $\beta$ -hydroxybutyric acid and glucose concentrations in dairy sheep. Res Vet Sci 2012; 93: 435-439
142. Burtis CA, Troutt HF, Goetsche GD, Jackson HD. Effects of glucagon, glycerol, and insulin on phlorizin-induced ketosis in fasted, nonpregnant ewes. Am. Vet. Res 1968; 29: 647
143. Goetsch GD, and Pritchard WR. Effects of oral administration of shortchain fatty acid some certain blood urine constituents of fasted phlorizin-treated ewes. Am. J. Vet. Res 1958; 19: 637

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI**  
**ETİK KURUL BAŞKANLIĞI**  
**KAYSERİ-TÜRKİYE**

**ETİK KURULUN ADI** : Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

**ETİK KURULUN ADRESİ** : Erciyes Üniversitesi

**Tarih:** 12.11.2008

**Toplantı Sayısı:** 10

**Karar No:** 08/54

Etik kurul toplantısı

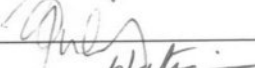
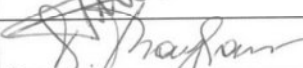
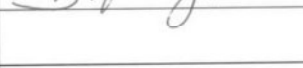
**12.11.2008**

tarihinde Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik

Kurul Başkanlığı'nda

**Doç.Dr. Harun Ülger**

başkanlığında gerçekleştirilmiştir.

| Üye Adı/Soyadı      | Akademik Ünvanı | Fakültesi               |                                                                                       |
|---------------------|-----------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Zübeyde Gündüz      | Prof. Dr.       | Tıp Fakültesi           |                                                                                       |
| Harun Ülger         | Doç.Dr          | Tıp Fakültesi           |    |
| Özlem Canöz         | Doç.Dr.         | Tıp Fakültesi           |    |
| Hatice Özbilge      | Doç.Dr.         | Eczacılık Fakültesi     |    |
| Servet Kesim        | Yard.Doç.Dr.    | Diş Hekimliği Fakültesi |   |
| Davut Bayram        | Öğrt.Gör.Dr.    | Veteriner Fakültesi     |  |
| Halit Erkiletlioğlu | Diş Hekimi      |                         |                                                                                       |
| Halil Tekiner       | Eczacı          |                         |                                                                                       |

Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr. Vehbi Güneş'in "Deneysel ketozis oluşturulan koyunlarda parenteral lipit emülsiyonlarının tedavi edici etkilerinin araştırılması" adlı araştırması incelenerek, çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

**Dosyada sunulan dökümanlar;**

**Tarih :** 12.11.2008

**Etik Kurul Başkanı :** Doç.Dr. Harun Ülger

**Etik Kurul Başkanı İmzası**

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Reyda ŞIKLAROĞLU KIYICI  
Uyruğu : Türkiye (T.C.)  
Doğum Tarihi ve Yeri : 19.08.1981, Pınarbaşı/KAYSERİ  
Medeni Durumu : Evli  
Tel : +90 507 305 56 47  
Email : reydakiyici@hotmail.com  
Yazışma Adresi : Çamlık Mah.Talih Sok.Fatoş Apt.No:2 Çekmeköy/İSTANBUL

### EĞİTİM

| Derece | Kurum                                      | Mezuniyet Tarihi |
|--------|--------------------------------------------|------------------|
| Lisans | Selçuk Üniversitesi<br>Veteriner Fakültesi | 2004             |
| Lise   | Salim Yılmaz Lisesi MERSİN                 | 1998             |

### İŞ DENEYİMLERİ

| Yıl | Kurum | Görev |
|-----|-------|-------|
|-----|-------|-------|

### YABANCI DİL

İngilizce