



Köpeklerin Hepatobiliyer Hastalıklarında Rutin Hematolojik ve Biyokimyasal Testler ile Serum Safra Asitlerinin Açlık ve Tokluk Düzeylerinin Klinik Önemi *

Sevgi NEGİŞ¹, Arif ALTINTAŞ²

¹Fulya Veteriner Polikliniği, İstanbul - TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

Özet: Çalışmada, hepatobiliyer hastalıklı köpeklerde veteriner klinisyenlerin kullandığı rutin laboratuvar test sonuçlarının serum açlık ve tokluk safra asitleri düzeyleri ile birlikte değerlendirilmesi ve safra asitlerinin duyarlılığı ve özgüllüğünün, özellikle zaman ve ekonomi açısından avantaj sağlayıp sağlamadığının incelenmesi amaçlanmıştır. Hepatobiliyer hastalık belirtileriyle getirilen değişik ırktan 10 (hasta) ve klinik olarak sağlıklı 10 (kontrol) olmak üzere toplam 20 köpek çalışmada kullanılmıştır. Hepatobiliyer hastalıklar klinik inceleme, rutin hematolojik ve biyokimyasal analizler, ultrason, histopatolojik inceleme ve biyopsi vb. tanısal testlerle belirlenmiştir. Biyokimyasal kan parametreleri, her biri için hazırlanmış, ticari test kitleri kullanılarak otoanalizörde, hematolojik kan parametreleri ise kan sayım cihazında ölçülmüştür. Hayvanlardan 12 saatlik açlık ve 2 saatlik tokluk kan serumlarında safra asit düzeyleri enzimatik yöntemle tespit edilmiştir. Serum açlık ve tokluk safra asitleri, ALT, ALP ve bilirubin düzeyleri, hepatobiliyer hastalıklı köpeklerde kontrol köpeklerdekinden önemli derecede yüksek bulunmuştur. Köpeklerde hepatobiliyer hastalıkların tanısında, ayırıcı tanısında ve izlenmesinde serum safra asitlerinin açlık ve tokluk düzeylerinin veteriner kliniklerde uygulanmakta olan rutin testlerden daha duyarlı ve özgül olduğu, zaman ve ekonomik olarak veteriner klinisyenlere avantaj sağlayacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: ALP, ALT, karaciğer-safra yolu hastalıkları, köpek, safra asitleri

Routine Hematological and Biochemical Tests for Dogs with Hepatobiliary Diseases and Clinical Importance of Fasting and Toughness Levels of Serum Bile Acids

Summary: In this study, it was aimed to evaluate the routine laboratory test results used by veterinary clinicians in hepatobiliary disease dogs together with serum fasting and postprandial bile acid levels and to investigate whether the sensitivity and specificity of bile acids, especially time and economy, give clinicians an advantage. A total of 20 dogs, 10 animals with hepatobiliary disease symptoms (patient) and 10 clinically healthy (control) animals were the animal materials of this study. Hepatocellular diseases have been determined by clinical examination, routine hematologic and biochemical analyzes, ultrasonography, histopathologic examination and biopsy. Biochemical blood parameters were measured by an autoanalyzer using commercially available test kits. Hematological blood parameters were measured by a blood counter. Bile acid levels were determined by enzymatic method in blood sera taken after 12 h fasting and 2 h toughness. Serum fasting and toughness bile acids, ALT, ALP and bilirubin levels were found significantly higher in dogs with hepatobiliary disease than control dogs. In the case of hepatobiliary diseases in dogs, it has been concluded that starvation and toughness levels of serum bile acids are more sensitive and specific than routine tests applied in veterinary clinics, which would provide veterinary clinicians with advantages of time saving and economic.

Key words: ALP, ALT, bile acids, dog, hepatobiliary diseases

Giriş

Karaciğer, pankreas, safra kanalları ve safra kesesi hepatobiliyer sistem içinde yer alırlar ve sindirim için gereklidirler. Bu sistemin hastalıkları genel olarak hepatobiliyer hastalıklar olarak bilinir (4). Sindirim sistemi içerisinde yer alan ve

çok sayıda fonksiyonu gerçekleştiren karaciğer; üstlendiği metabolik şeflik görevi (14) yanında, safra asitlerini üretir ve birçok endojen ve eksojen bileşiğin detoksifikasyonunu sağlar (13). İlaçlar safra ile uzaklaştırılır, eritrosit döngüsü safra sistemi içerisinde gerçekleşir ve yağlar bağırsakta safranin varlığında sindirilir (18). Safranin önemli bir bileşeni olan safra asitleri, lipid sindirimi yanında, sinyal moleküller ve hormonlar olarak da görev alırlar (1,12,16). Hepatobiliyer hastalıkların tedavisinde safra asitlerinin ya da safra asit reseptörlerini etkileyen etkenlerin kullanımında, onların uyarıcısı oldukları reseptör

Geliş Tarihi/Submission Date : 06.06.2017

Kabul Tarihi/Accepted Date : 03.10.2017

*Bu çalışma Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 16.12.2009 gün ve 2009-52-263 sayılı kararı ile gerçekleştirilen "Köpeklerde karaciğer-safra kanalı hastalıklarında kan ALT, ALP, bilirubin ve safra asitleri düzeyleri" adlı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

törlere olan ilgileri önem arz eder (15). Karaciğer fonksiyonlarının karmaşıklığı, birbirlerine olan bağılıkları ve aynı zamanda farklı derecedeki hasarlara farklı oranda direnç göstermesi hepatobiliyer hastalıkların klinik tanısını zorlaştırmaktadır (24). Bilindiği gibi, karaciğer geniş bir rezerv kapasiteye ve rejenerasyon yeteneğine sahiptir (14). Üstelik karaciğer yıkımı primer ya da sekonder nedenli olabilir ve bunun sonucu olarak da klinik tablolar her zaman karaciğer hastalığını işaret etmeyebilir. Hepatobiliyer sisteme ait organlardan birinin rahatsızlığı diğerlerini de etkiler. Hepatopatinin sekonder olup olmadığını belirlemek bu açıdan önemlidir. Bu durumda gerekli olmayan bazı hepatik muayenelerden (biyopsi vb.) kaçınılır, böylece gerçek sorunun tanı ve tedavisi için ekonomi yapılmış ve zaman boşa harcanmamış olur (10). Hepatobiliyer hastalıkların tanısında ve izlenmesinde serum ALT, AST, ALP ve GGT enzim analizleri uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Günümüzde de, klinisyenlerin birçoğu karaciğerle ilgili fonksiyonları değerlendirmede, karaciğer enzimleri ve bilirubin gibi değerleri tercih etmektedirler. Her ne kadar bu enzimler hasta-

hastalıkların tespit edilmesinde yararlanılabilir. Safra asitleri testinin kedi ve köpeklerde hepatobiliyer hastalıklar ve portosistemik vasküler anormallikler için tanısal test olarak kullanılacağı bildirilmiştir (17). Bu nedenle çalışmada, hepatobiliyer hastalıklarda rutin test sonuçlarının açlık ve tokluk safra asit düzeyleri (ASA ve TSA) ile birlikte değerlendirilmesi ve hepatobiliyer hastalıkların tanısında ve izlenmesinde safra asit düzeylerinin veteriner klinisyenlere ne kadar yardımcı olabileceğinin, ekonomik ve zaman açısından neler kazandırabileceğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

İstanbul'da özel bir veteriner polikliniğine gelen karaciğer ve safra sistemi hastalıklarından şüpheli 10 köpek ile sağlıklı olup rutin aşılama ve kontrol için gelen 10 köpek olmak üzere değişik ırklardan toplam 20 köpek çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 16.12.2009 gün ve 2009-52-263 sayılı kararı ile gerçekleştirilmiştir. Köpeklere ait bireysel özellikler Tablo 1'de verilmiştir. Hayvanlarda yaş, ırk ve cinsiyet dikkate alınmamıştır.

Tablo 1. Klinik olarak hastalıklı ve sağlıklı (kontrol) görünen köpeklerde bireysel özellikler

No	Hastalıklı Köpekler			Sağlıklı Köpekler		
	İrk	Cinsiyet	Yaş (yıl)	İrk	Cinsiyet	Yaş (yıl)
1	Teriyer melezi	Dişi	13	Golden Retriever	Dişi	1
2	Melez	Erkek	7	Melez	Erkek	4
3	West Highland	Dişi	6	Boxer	Dişi	6
4	Doberman Pinscher	Erkek	6	Chiwawa	Dişi	5
5	Alman çoban köpeği	Dişi	0.5 (6ay)	Labrador Retriever	Erkek	3
6	Teriyer melezi	Dişi	15	Melez	Erkek	2
7	Cocker Spaniel	Dişi	11	Alman çoban köpeği	Dişi	9
8	Dachshund	Erkek	11	Rottweiler	Erkek	5
9	Cocker Spaniel	Erkek	8	Golden Retriever	Erkek	2
10	Labrador Retriever	Erkek	6	Rottweiler	Erkek	3

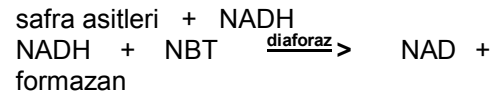
lıkların belirlenmesinde yüksek bir hassasiyete sahip olsalar da, özgüllüklerinin az olması nedeniyle zaman zaman laboratuvar sonuçlarının hatalı şekilde yorumlanmasına neden olurlar. İşte bu noktada serum safra asitleri tayini önem arz edebilir. Özellikle klinik olarak, siroz, portosistemik şant gibi gizli seyreden hepatobiliyer

Köpeklerin bacak venalarından usulüne uygun olarak alınan kan örneklerinden serumlar çıkarılmış ve biyokimyasal (toplam protein, kan üre azotu (BUN), kreatinin, ALT, AST, ALP, glikoz, Na, K, Ca, P, amilaz, lipaz, kolesterol, toplam bilirubin, ASA, TSA) ve hematolojik (RBC, HCT, MCV, HGB, MCH, MCHC, PLT, WBC) analizle-

re tabi tutulmuştur. Hastalardan bazılarında tanıyı güçlendirmek için idrar analizi, histopatolojik analiz ve ultrason, biyopsi vb. tanısal incelemeler de yapılmıştır. Bu uygulamalar özel bir veteriner laboratuvarı'nda (Vetlab, İstanbul) gerçekleştirilmiştir.

Serum biyokimyasal parametrelere ait değerler otoanalizör (Prestij 24i Biyokimya Analizörü) kullanılarak ölçülmüştür. Hayvanlardan 12 saatlik açlık ve 2 saatlik bir tokluk durumunda alınan kanların serum örneklerinde safra asitleri enzimatik yöntemle (Spinreact) tespit edilmiştir (19). Yönteme göre; 3-alfahidroksisteroid dehidrogenaz (3 α -HSD) enzimi ile safra asitlerindeki 3-alfa-hidroksil grupları oksidasyonla 3-keton gruplarına çevrilirken aynı anda NAD⁺ NADH'a indirgenir. Elde edilen NADH sonrasında nitrotetrazolyum mavisi (NBT) ile reaksiyona sokulur ve diaforaz enzimi ile formazan boya meydana gelir. Bu boyanın 540nm dalga boyunda ışık absorbansı ölçülerek serum safra asit düzeyleri hesaplanır (toplam safra asidi miktarı: mg/Lx2.547= μ mol/L olarak bulunur). Absorbans safra asidi miktarı ile doğru orantılıdır.

Test yüksek spesifite ve duyarlılığa sahiptir ve reaksiyonlar şu şekildedir (3):



Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizi için SPSS 14.1 paket programından yararlanılmıştır. İstatistik analize geçilmeden önce verilerin dağılımını incelemek ve parametrik test varsayımlarını kontrol etmek için Shapiro Wilks ve Levene Testi uygulanmıştır (22). Hasta ve kontrol gruplarında elde edilen ortalama değerler arası farklılıkların önemi, parametrik test varsayımlarını sağlayan değişkenler için student t-testi, parametrik test varsayımlarını sağlayamayan değişkenler için ise Mann Whitney- U testi kullanılmıştır.

Bulgular

Hepatobiliyer hastalıklı köpeklerde, klinik olarak daha çok (%50 ve üzeri) uyuşukluk, iştahsızlık, kusma, ateş ve dehidrasyon gözlenmiştir (Tablo 2). Hastalık belirtileri gösteren köpeklere ait klinik bulgular ve derecelendirme ile olgular arasındaki %'lik dağılım Tablo 2'de verilmiştir.

İncelenen parametreler açısından hasta ve kontrol gruplarına ait ortalama değerler arası farklılıkların istatistik önemliliği Tablo 3'te sunulmuştur. Hepatobiliyer hastalıklarda kan lökositlerinde de önemli bir artış gözlenmiş ve artışın

Tablo 2. Hastalıklı köpeklerde gözlenen klinik bulgular, derecelendirmeler ve %'lik dağılım

Olgu	İştahsızlık	Uyuşukluk	Kusma	Kilo kaybı	Sarılık	Ateş	Asites	Karın ağrısı	Su kaybı	Deri lezyonu	Sinirsel bulgu	Polidipsi Poliüri	Dispne
1	++	++	+		+++								
2	+	+		+			+		+				
3	+		+					+					+
4	+	++	+	+	++	++			++	+			
5		+									+		
6	++	++	+		+++	++			++				+
7						+				+		+	+
8	++	+	+			+	+	+	++				
9		++	+			+		+	++				
10	+	+	+			+							
Sıklık	%70	%80	%70	%20	%30	%60	%20	%30	%50	%20	%10	%10	%30

İştahsızlık: += yenilen miktarda azalma, ++= hiçbir şey yememe
Kusma: += mevcut
Sarılık: ++= gözler ve deride, +++=gözler, deri ve mukozalarda
Asites: += mevcut
Dehidrasyon: += orta düzeyde, ++= oldukça
Sinirsel bulgular: += mevcut
Dispne: += mevcut

Uyuşukluk: += hareketlilikte azalma, ++= devamlı uyuma hali
Kilo kaybı: += mevcut
Ateş: += 38.5-39°C, +++= 39-40°C
Abdominal ağrı: += mevcut
Deri lezyonu: += mevcut
Polidipsi-poliüri: += mevcut

Tablo 3. Hasta ve Kontrol gruplarından elde edilen hematolojik ve biyokimyasal verilerin istatistik analizi.

Parametre	Hasta Grup (n=10) X±Sx	Kontrol Grup (n=10) X±Sx	P
RBC (x 10 ⁶ /mm ³)	6.41±0.27	6.63±0.20	0.510
HCT (%)	42.63±3.19	43.04±2.14	0.915
MCV (µm ³)	67.4±2.0	67.6±1.1	0.912
Hemoglobin (g/dL)	14.31±0.85	15.94±0.48	0.103
MCH (pg)	21.7±0.5	21.4±0.4	0.637
MCHC (g/dL)	33.01±0.69	33.10±0.50	0.917
PLT (x 10 ³ /mm ³)	308.67±31.43	337.10±29.44	0.518
Lökosit (x 10 ³ /mm ³)	21.18±3.06	11.15±0.73	0.004
Toplam Protein (g/dL)	6.53±0.46	6.64±0.19	0.808
BUN (mg/dL)	23.89±10.33	18.20±1.74	0.601
Kreatinin (mg/dL)	1.81±0.93	0.90±0.06	0.356
ALT (U/L)	460.22±141.64	54.00±6.78	0.021
AST (U/L)	85.33±11.70	34.30±2.68	0.043
ALP (U/L)	1174.78±545.46	88.10±9.79	0.005
Glikoz (mg/dL)	92.89±6.95	102.30±5.20	0.287
Na (mmol/L)	145.22±2.62	149.60±0.70	0.141
K (mmol/L)	3.87±0.22	4.36±0.14	0.074
Ca (mg/dL)	9.75±0.53	10.34±0.18	0.324
P (mg/dL)	5.94±1.58	5.00±0.29	0.525
Amilaz (U/L)	880.40±112.66	675.50±71.52	0.094
Lipaz (U/L)	1795.00±1089.03	264.90±40.59	0.028
Toplam Kolesterol (mg/dL)	418.22±156.23	210.10±12.47	0.220
Toplam Bilirubin (mg/dL)	3.46±0.99	0.33±0.06	0.013
Açlık SA (µmol/L)	79.11±12.49	4.30±0.67	0.000
Tokluk SA (µmol/L)	101.67±14.87	11.70±1.02	0.000

sağlıklı hayvanlardakinin yaklaşık iki katı olduğu hesaplanmıştır (Tablo 3).

Kontrol grubunu oluşturan köpeklerde hematolojik ve biyokimyasal analiz sonuçları normal değerlerde bulunmuştur. Açlık ve tokluk serum safra asitleri ortalama değerleri sırasıyla 4.30±0.67 µmol/L ve 11.70±1.02 µmol/L; ALT ve ALP aktiviteleri sırasıyla 54.00±6.78 ve 88.10±9.79 U/L, T.bilirubin ortalama değeri ise 0.33±0.06 mg/dL olarak hesaplanmıştır (Tablo 3). Hepatobiliyer hastalıklı köpeklerde ise, bu parametrelere ait ortalama değerlerin kontrol değerlerden oldukça yüksek oldukları saptanmıştır. Özellikle açlık serum safra asitleri ortalama değerinin (79.11±12.49 µmol/L) kontrol değerden yaklaşık 18 kat, tokluk serum safra asit ortalama değerinin ise (101.67±14.87 µmol/L) kontrol değerlerden yaklaşık 9 kat yüksek olduğu bulunmuştur. Tokluk safra asitleri ortalamala-

rının değer olarak yüksek seviyelere ulaştığı hesaplanmıştır (Tablo 3).

Serum ALT, ALP, toplam bilirubin ve safra asitleri seviyelerinin hastalıklara göre karşılaştırılması Tablo 4'te verilmiştir. Tabloda verilen hastalıklar içinde böbreküstü bezin aşırı aktivitesi (hiperadrenokortisizm) hepatobiliyer hastalıklar içinde olmamasına rağmen klinik muayene sırasında karıştırılabileceği düşüncesiyle ve test sonuçlarını hepatobiliyer hastalıklar ile karşılaştırmak amacıyla tabloya dahil edilmiştir. Diğerleri primer ya da sekonder olarak hepatobiliyer hastalıklar içinde değerlendirilmiştir.

Rutin biyokimyasal analizlerden ALT, AST, ALP, lipaz ve toplam bilirubin ortalama değerlerinin hasta köpeklerde kontrollere göre istatistik açıdan önemli artışlar sergilediği saptanmıştır (P<0.05). Bunlardan çok daha güçlü olarak açlık ve tokluk serum safra asit ortalama değerlerinin

Tablo 4. Köpeklerde serum ALT, ALP, toplam bilirubin ve safra asit düzeylerinin çalışmada gözlenen hastalıklardaki dağılımı

Ör- nek No	Gözlenen Hastalıklar	Açlık Safra asitleri	Tokluk Safra asitleri	ALT	ALP	Toplam Bilirubin
1	Kolestaz	150 (+++)	135 (++)	1254 (+++)	4642 (++++)	8.8 (++++)
2	Siroz	75 (++)	80 (++)	29	140	0.6
3	Akut pankreatit nedenli kolestaz	82 (++)	76 (++)	240 (+)	534 (+)	1.4 (+)
4	Leptospiroz	56 (++)	62 (++)	120 (+)	161 (+)	4.3 (++)
5	Portosistemik şant	78 (++)	189 (+++)	181 (+)	261 (+)	0.7
6	Kolestaz	82 (++)	114 (+++)	786 (++)	3257 (+++)	6.7 (++++)
7	Hiperadrenokortisizm	3	14	105 (+)	2090 (+++)	0.5
8	Biliyar Peritonit	115 (+++)	128 (+++)	159 (+)	457 (+)	3.4 (++)
9	Akut pankreatit nedenli kolestaz	57 (++)	58 (++)	478 (+)	1035 (++)	4.7 (++)
10	NSAID nedenli karaciğer zehirlenmesi	17 (+)	43 (+)	895 (++)	108	0.5

Safra Asitleri: <50: +, 50-100: ++, >100: +++

ALT: <500: +, 500-1000: ++, >1000: +++

ALP: <500: +, 1000-2000: ++, 2000-3500: +++ , >3500: ++++

TB: <3: +, 3-5: ++, 5-7: +++ , >7: ++++

kontrol grubuna göre önemli artışlar gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 3). Bu artışlar tüm hepatobiliyer hastalıklarda (9/10) gözlenmiştir (Tablo 3). Özellikle kolestaz ve biliyar peritonit olgularında hem açlık hem de tokluk safra asitlerinin çok daha anlamlı artışlar (>100µmol/L) gösterdiği dikkati çekmiştir (Tablo 4). Hepatobiliyer bir hastalık olmayan hiperadrenokortisizmde serum safra asitlerinin açlık ve tokluk değerlerinin normal sınırlarda kaldığı (3 ve 14 µmol/L) gözlenmiştir. Kolestazis olgularında serum ALT değerlerinin en yüksek değerlere (1254 U/L ve 786 U/L) eriştiği, ALP düzeylerinin 4542 U/L ve 3257 U/L olduğu ve toplam bilirubin değerlerinin de çok önemli artışlar sergilediği (8.8 ve 6.7mg/dl) tespit edilmiştir (Tablo 4).

Serum lipaz aktivitesinin köpeklerde büyük varyasyon gösterdiği ve kontrol grubuna (264±40.59 U/L) oranla hepatobiliyer hastalıklı köpeklerde yaklaşık yedi kat arttığı (1795±1089.03 U/L) saptanmıştır (Tablo 3).

Tartışma ve Sonuç

Karaciğer fonksiyonlarının karmaşıklığı, birbirlerine olan bağılıkları ve aynı zamanda farklı derecedeki hasarlara farklı oranda direnç göstermeleri hepatobiliyer hastalıkların klinik tanısını zorlaştırır (24). Diğer taraftan, karaciğer yıkımı primer ya da sekonder nedeni olabilir ve bunun sonucu olarak da klinik tablolar her zaman karaciğer hastalığını işaret etmeyebilir (10). Hepato-

biliyer hastalıklarda gözlenen halsizlik, kusma, iştahsızlık, kilo kaybı ve uyuşukluk (letarji) gibi klinik bulgular genellikle hastalıkları ayırıcı özellikte değildir. Hastalar birçok hastalıkta da gözlenen genel bir klinik tablo sergilerler. Çalışmada hepatobiliyer hastalıklardan şüpheli dokuz köpekte yaygın olarak uyuşukluk (9/10), kusma (7/10), iştahsızlık (5/10), dehidrasyon (6/10), yüksek ateş (6/10) gibi genel bulgular tespit edilmiştir (Tablo 2). Fazla belirleyici olmayan bu tür klinik bulgularda çoğu zaman serumda biyokimyasal analizler yapılmadan, karaciğer ya da safra sistemindeki bir problemden şüphelenilmez (21). Bu durumda, veteriner kliniklerde rutin olarak daha çok hepatobiliyer enzimler (ALT, AST, ALP, GGT), bilirubin serum değerleri ölçülür ve bazı görüntüleme tekniklerinden yararlanılır (14).

Hemogram ve formül lökosit analizleri 10 hastanın 8'inde yangısal bir reaksiyonun varlığına ve onun karakterine dair fikir vermiştir. Lökosit dışında bu hematolojik değerlerin hiçbiri tanısız açıdan gruplar arasında önemli bir farklılık oluşturmamıştır (Tablo 3). Kan lökositlerindeki bu artış sağlıklı hayvanlardakinin yaklaşık iki katı olup (Tablo 3), karaciğer hastalıklarında muhtemelen sekonder hastalıkların devreye girmesi ile ilişkilendirilebilir.

Çalışmada serum biyokimyası açısından öne çıkan ortak veri 10 hastanın 9'unda hepatobili-

yer enzimlerin (+lipaz) ve serum safra asit değerlerinin yüksek oluşudur (Tablo 3). Bu parametrelerin hepatobiliyer hastalıklara göre dağılımı anlamlıdır (Tablo 4). Özellikle safra asit değerleri 10 hastanın dokuzunda çok anlamlı bir artış göstermiştir. Hiperadrenokortisizm'de ise normal seviyelerinde kalmıştır (3 ve 14 $\mu\text{mol/L}$). Bu şekilde, hiperadrenokortisizm klinik muayene ve anamnez sonunda hepatobiliyer bir hastalıktan şüphelenilirse serum safra asitlerinden ayırıcı tanıda yararlanılabileceği belirlenmiştir. Açlık ve tokluk safra asitlerinin hepatobiliyer hastalıklardaki dağılımında bilhassa kolestazda ve biliyar peritonitte her ikisi de $>100 \mu\text{mol/L}$ değerlere ulaşmıştır. Buna karşın, portosistemik şant (PSS)'da sadece tokluk safra asit değerleri $>100 \mu\text{mol/L}$ bulunmuştur (Tablo 3).

Kolestazda diğer karaciğer fonksiyon testleri ile birlikte serum safra asitleri de (açlık ve tokluk) çok önemli artış göstermiştir (Tablo 4). Akut pankreatit nedenli kolestazda (sekonder) da benzer artışlar saptanmıştır. Fakat bu artışlar primer kolestazdaki kadar yüksek değerlere ulaşmamıştır. Sirozda diğer karaciğer fonksiyon testleri normal iken hem açlık hem de tokluk serum safra asitleri önemli artış göstermiştir (Tablo 4). Steroid olmayan ağrı kesici ilaçlardan (NSAID) kaynaklı karaciğer zehirlenmesinde safra asitleri açlık ve tokluk serum değerleri hafif artış gösterirken; diğer karaciğer fonksiyon testlerinden sadece ALT çok yüksek değerlere ulaşmıştır (Tablo 4). Bu artış hepatositlerin hasarı ile ilişkilendirilebilir.

Kontrol grupta ise, açlık ve tokluk safra asitleri ortalama düzeyleri sırasıyla $4.30 \pm 0.67 \mu\text{mol/L}$ ve $11.70 \pm 1.02 \mu\text{mol/L}$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 3). Serum safra asit ortalama değerleri referans değerler içinde (ASA: 0-12 $\mu\text{mol/L}$ ve TSA: 0-16 $\mu\text{mol/L}$) bulunmuştur (23). Kontrol grubundaki köpeklerde saptanan diğer biyokimyasal parametrelere ait ortalama değerlerin de köpekler için bildirilen normal sınırlar içinde kaldıkları belirlenmiştir (2).

Kedi ve köpekler için referans aralık değerleri; enzimatik yöntemde 12 saat açlık sonrası için $<10 \mu\text{mol/L}$ ve beslenmeden 2 saat sonrası için $<20 \mu\text{mol/L}$ (8). Bir başka kaynakta ise (3), köpek ve kedide preprandiyal (öğün öncesi) normal değerler sırasıyla $\leq 10 \mu\text{mol/L}$ ve $\leq 5 \mu\text{mol/L}$; postprandial (öğün sonrası) normal değerler ise sırasıyla $\leq 25 \mu\text{mol/L}$ ve $\leq 15 \mu\text{mol/L}$ olarak verilmiştir. Köpeklerde $>25 \mu\text{mol/L}$ serum safra asit düzeyleri anormal kabul edilmiştir (17).

Çalışmada, hepatobiliyer hastalıklı dokuz hayvanın sadece üçünde (3/9) ALT seviyesi ciddi oranda bir artış göstermiştir (Tablo 3 ve Tablo 4). Direkt karaciğer sorunu olan sirozda ise (Olgu 2) seviyeleri normal bulunmuştur. Diğer 5 köpekte karaciğer hastalıkları haricinde, sistemik olan rahatsızlıklarda görülebilecek bulguların varlığında (kilo kaybı, kusma, ishal, hepatomegali, asites, depresyon, anoreksi gibi) veya sekonder hastalıklarda bu değerler hafif oranlarda yükselmesine neden olabilir (26). Her ne kadar bu değer başlangıçta karaciğeri düşündürse de, gerek hepatobiliyer hastalıklar gerekse karaciğerde yıkıma neden olabilecek diğer sekonder sorunların ayırımında klinik olarak yardımcı olmamıştır.

Serum ALP değerlerini incelediğimizde (Tablo 3 ve Tablo 4), kolestazlı hastalarda (Olgu 1 ve 6) normal değerler üç katından daha fazla olmak üzere ciddi bir artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.01$). Siroz ve karaciğer toksikasyonu gözlenen hastalarda (Olgu 2 ve 10) serum ALP değerleri normal seviyede kalmıştır. Genel olarak ALT ile benzer artışlar gösteren bu enzim, sadece kolestaz tanısı aşamasında oldukça yüksek seviyeleri nedeniyle önemli bir bulgu olarak ortaya çıkmıştır. Ancak sindirim sistemi, pankreas ve kemik ile ilgili rahatsızlıklarda da artış gösterdiği için serum ALP değeri sadece karaciğere spesifik bir bulgu değildir (14). Karaciğerin ilaç metabolizmasında oynadığı merkezi rolü, yüksek kan akımına sahip olması ve sindirim sistemi ile sistemik dolaşım arasındaki yakın anatomik pozisyonu onu sekonder bozukluklara karşı oldukça hassas bir duruma sokar. Bu nedenle, birçok klinik olguda karaciğer enzimleri artış gösterebilir ancak, önemli bir hepatobiliyer hastalık durumu mevcut olmayabilir. Aynı zamanda, enzim aktivitelerinin yükselme seviyesi karaciğerin fonksiyonel kapasitesiyle de ilgili bir bilgi vermez, prognozun göstergesi de değildir (7).

Bilirubin enzimlere oranla çok daha spesifiktir, ancak hassasiyeti düşüktür (10). Kedi ve köpeklerde genellikle bilirubin seviyesi henüz yükselmeden, mevcut karaciğer hastalığı kısmen ciddi bir seviyeye gelmiş olabilir. Buna rağmen tanı ve prognoz açısından fazla değeri yoktur. Sekonder karaciğer hastalıklarında da (septisemi, toksemi ya da enfeksiyon gibi), primer olanlara benzer bir sarılık tablosu görülebilir (26). Yüksek bilirubin seviyesinin mutlaka prehepatik, hepatic ya da posthepatik olup olmadığı da in-

celenmelidir (10). Bu bağlamda serumda direk ve indirek bilirubin testleri uygulanabilir (14). Bilirubin de ALP gibi kolestazlı hastalarda ciddi oranda bir artış göstermişken (Olgu 1, 6, 9), bu hastaların ikisinde (Olgu 1 ve 6) sarılık durumu klinik incelemede de gözlenmiş (Tablo 4) fakat Olgu 9'da klinik muayene ile uyumlu bulunmamıştır. Kolestaz dışında yine sarılığın gözle görüldüğü leptospiroz olgusunda ve direkt safra sistemi ile ilişkili biliyar peritonitte de artış gösteren bilirubin, karaciğeri direkt etkileyen toksikasyon, siroz ve PSS rahatsızlıklarında normal seviyede kaldığı için hassasiyeti düşük olarak değerlendirilmiştir. Buna karşın, çalışmada serum safra asitlerinin açlık ve tokluk düzeylerinin tayini klinik olarak çok daha yararlı olduğu kanısına varılmıştır. Özellikle siroz, portosistemik şant ve biliyar peritonit tespit edilmesinde önemli olduğu gözlenmiştir (Tablo 4). Serum lipaz aktivitesinin kontrol gruba oranla hepatobiliyer hastalıklı köpeklerde yaklaşık 7 kat arttığı gözlenmiş (Tablo 3), ancak köpeklerde büyük varyasyon nedeniyle klinik olarak önem taşımadığı kanısına varılmıştır.

Sağlıklı 10 köpekte açlık ve beslenmeden 2 saat sonrası (tokluk) safra asit ortalama değerleri sırasıyla 4.30 ± 0.67 $\mu\text{mol/L}$ ve 11.70 ± 1.02 $\mu\text{mol/L}$ bulunmuştur. Çeşitli karaciğer hastalıklarından şikayet edilen 9 köpekte ise, ortalama değer olarak açlık 79.11 ± 12.49 ve tokluk 101.67 ± 14.87 $\mu\text{mol/L}$ hesaplanmıştır (Tablo 3). Portosistemik şantlı bir köpekte açlık safra asit değerleri 78 ve tokluk değerleri 189 $\mu\text{mol/L}$ hesaplanmıştır. Hiperadrenokortisizm'li bir köpekte ALT aktivitesi 105 IU/L(+) ve ALP aktivitesi 2090 IU/L(+++) olmasına rağmen açlık ve tokluk safra asit düzeyleri sırasıyla 3 ve 14 $\mu\text{mol/L}$ bulunmuştur. Buradan safra asit değerlerinin hepatobiliyer hastalıkların tanısında çok daha önemli ve hassas olduğu sonucunu çıkarabiliriz. Buna karşın, sirozda 75/80 $\mu\text{mol/L}$ (++); akut pankreatit nedenli kolestazda 82/76 ve 57/58 $\mu\text{mol/L}$ (++) ve NSAİD nedenli karaciğer zehirlenmesinde 17/43 (+/++) hesaplanmıştır (Tablo 4). Benzer bir çalışmada (25) sağlıklı 66 köpekte, açlık ve beslenmeden 2 saat sonrası safra asitleri değeri 2.5 $\mu\text{mol/L}$ bulunmuştur. Çeşitli karaciğer hastalıklarından muzdarip 62 köpekte açlık 86.9 ve tokluk 78.7 $\mu\text{mol/L}$ bulunmuştur. Portosistemik şantlı köpeklerde açlık/tokluk safra asit değerleri 114/221 $\mu\text{mol/L}$, sirozda ise 62/149 $\mu\text{mol/L}$ hesaplanmıştır. Portosistemik şant için en yaygın kullanılan tarama testleri safra asitleri

değeri ve plazma amonyak düzeyleridir. Genel bir popülasyonda ve karaciğer hastalığı olan köpeklerde plazma amonyak derişimi portosistemik şant varlığını saptamak için oldukça duyarlı ve spesifik bir parametredir (9).

Karaciğer hastalığı tanısında açlık serum safra asitlerinin spesifitesi, 5 $\mu\text{mol/L}$ 'ye eşit ve 15 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerinde veya daha yüksek bir seviyede %100'e ulaştığı bildirilmiştir (5).

Yapılan bu çalışmada ise, karaciğer hastalıklarının tanısında, serum safra asitlerinin <50 $\mu\text{mol/L}$:+, 50-100 $\mu\text{mol/L}$:+, >100 $\mu\text{mol/L}$:+ olarak değerlendirilmiştir. Buna göre açlık değerleri kolestaz ve biliyar peritonit olgularında >100 $\mu\text{mol/L}$ (+++), akut pankreatit nedenli kolestaz, leptospiroz, portosistemik şant gibi hepatobiliyer hastalıklarda ise 50-100 $\mu\text{mol/L}$ (++) olduğu saptanmıştır (Tablo 4). Böylece, serum safra asitleri açlık ve tokluk değerlerinin diğer parametrelere göre çeşitli karaciğer hastalıklarının (kolestaz, siroz, leptospiroz, portosistemik şant, biliyar peritonit, karaciğer zehirlenmesi) en spesifik ve duyarlı göstergeleri olduğu ve klinik hastalık derecesi ile ilişki içinde bulunduğu söylenebilir.

Serum safra asitleri derişimi hepatosellüler, kolestazik hastalıklar ve PSS'de artış gösterir (11,14). Özellikle hem açlık hem de tokluk safra asitleri belirlendiğinde bu testlerin hassasiyeti diğer bütün karaciğer fonksiyon testlerinden çok daha fazladır. Bugün için, klinik bulgularda sarılık varsa, hepatik ya da ekstrahepatik bir sorunu olan hastalar hakkında serum safra asitleri değeri daha fazla bilgi vermez. Sarılık olmayan ve karaciğer hastalığından şüphelenilen olgularda ise, sonraki tanısız değerlendirmelere de destek olacak iyi bir inceleme testidir. Açlık safra asitlerinin 10 $\mu\text{mol/L}$ 'den, tokluk safra asitlerinin ise 20-25 $\mu\text{mol/L}$ 'den fazla olması önemli bir hepatik hastalığın ya da PSS'nin varlığını belirtir ve daha ileri karaciğer değerlendirmelerinin, mümkünse karaciğer biyopsisinin yapılması gerektiğini hatırlatır (6). Çünkü kronik hepatit, hepatik nekroz, kolestaz ve hepatik neoplazinin de olduğu birçok hastada serum safra asit değerleri anormal olup genellikle hepatik olmayan bozukluklardan kaynaklanan sekonder karaciğer hastalıklarında belirgin bir artış göstermezler (26). Bu durum, ultrason veya biyopsi gibi tanı yöntemlerinin yapılması/yapılmaması kararının alınmasını kolaylaştırır (20).

Siroz ve PSS'li olgularda serum parametreleri arasında safra asitleri en belirgin artışı göster-

miştir (Tablo 4). Ayrıca olgu 10'da yüksek ALT değerinin karaciğerle ilişkili olabileceği düşüncesini destekleyen tek parametre olarak hassasiyetini belli etmiştir. Hiperadrenokortisizm de ise enzimlerin yükselmiş olmasına karşılık, normal kalan safra asitleri değeri karaciğer haricinde başka bir sorunun (sekonder) olma ihtimalini kuvvetlendirmiştir. Bilirubin ve ALP değerlerinin de hep yüksek seyrettiği kolestaz olgularında ise anlamlı artışlar tespit edilmiş ve böylece tanıda olasılıkların azaltılmasına yardımcı olmuştur. Siroz ve karaciğer zehirlenmesindeki yüksek seviyeleri sayesinde safra asitleri bu hastalarda biyopsinin gerekliliğini göstermiş ve bu sayede kesin tanıya varılmıştır. Safra asitlerinin açlık ve tokluk değerlerinin Olgu 7'de normal sınırlarda kaldığı (3 ve 14 $\mu\text{mol/L}$) gözlenmiştir. Böylece, klinik muayene ve anamnez sonucunda hepatobiliyer hastalık olarak değerlendirilecek sekonder hastalıkları ayırmada serum safra asitlerinden yararlanılabileceği anlaşılmıştır. Olgu 7 dışındaki hastaların tümünde serum safra asitleri düzeyleri yüksek bulunmuş ve bu artışlar kontrol grubuna göre istatistik açıdan da önemli hesaplanmıştır. Olguların çoğunda özellikle tokluk safra asit düzeylerinde daha ciddi artışlar saptanmıştır (Tablo 3 ve Tablo 4). Dolayısıyla sadece açlık safra asitleri test edilir ve normal bir sonuç çıkarsa, tokluk safra asitleri düzeyinin de mutlaka tespit edilmesi gerekliliği (26) bu çalışma ile de desteklenmiş ve doğrulanmıştır.

Sonuç olarak, serum safra asitlerinin açlık ve tokluk değerlerinin hepatobiliyer hastalıklarda tanısal önemde olduğu ve safra asitlerinin fraksiyonel incelenmesinin klinisyenlere çok daha yararlı olacağı ve hepatobiliyer hastalıkların tanısında, ayırıcı tanısında ve izlenmesinde klinisyenlere zaman kazandıracığı, maddi açıdan da tasarruf sağlayacağı kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. Alnouti Y. Bile acid sulfation: A pathway of bile acid elimination and detoxification. *Toxicol Sci* 2009; 108(2): 225-46.
2. Altıntaş A, Fidancı UR. Evcil Hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1993; 40(2): 173-86.
3. Anonim 1. Serum safra asit tayini. <http://www.eclinpath.com/chemistry/liver/liver-functiontests/bile-acids>. Erişim tarihi: 22.10.2015.
4. Anonim 2. Hepatobiliary diseases. https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_hepatobiliary_diseases. Erişim tarihi: 18.04.2017.
5. Center SA, Baldwin BH, Erb H, Tennant BC. Bile acid concentrations in the diagnosis of hepatobiliary disease in the cat. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 189(8): 891-6.
6. Center SA, ManWarren T, Slater MR, Wilentz E. Evaluation of twelve-hour preprandial and two-hour postprandial serum bile acids concentrations for diagnosis of hepatobiliary disease in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199(2): 217-26.
7. Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Internal Medicine. Seventh Edition. Vol 2.* Canada: Saunders Elsevier, 2010; p: 1609-710.
8. Freeman KP, Simpson J. Blood biochemistry: Bile acids. <https://www.vetstream.com/lapis/content/labtest/lab00294.asp>. Vetstream Ltd, 2014. Erişim tarihi: 15.12.2016.
9. Gerritzen-Bruning MJ, Van den Ingh TS, Rothuizen J. Diagnostic value of fasting plasma ammonia and bile acid concentrations in the identification of portosystemic shunting in dogs. *J Vet Intern Med* 2006; 20(1): 13-9.
10. Hall EJ, Simpson JW, Williams DA. *British Small Animal Veterinary Association. BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology, 2nd ed.* *Can Vet J* 2006; 47(7): 634.
11. Hofmann AF, Hagey LR. Bile Acids: chemistry, pathochemistry, biology, and therapeutics. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65(16): 2461-83.
12. Houten SM, Watanabe M, Auwerx J. Endocrine functions of bile acids. *EMBO J* 2006; 25(7): 1419-25.
13. Kahn CM. *The Merck Veterinary Manual. Ninth Edition.* USA: John Wiley and Sons, 2005.
14. Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T. Karaciğer Fonksiyonları. *Klinik Biyokimya Bölüm 7.* Ankara: Medisan Yayın Serisi No: 45, 2000.
15. Koç H, Altıntaş A. Safra asitleri ve obezite. *TVHB Dergisi* 2016; 16(3-4): 100-108.
16. Li T, Chiang JY. Bile acid signaling in metabolic disease and drug therapy. *Pharmacol Rev* 2014; 66(4): 948-983.
17. Morris DD. Diagnostic testing for liver disease. Careful selection and interpretation of diagnostic tests is key in determining cause and treatment. *Banfield Pet Hospital*. <https://>

- www.banfield.com/getmedia/0bc44376-daed-4531-99a0-cec65aa063fb/4_3Diag-nostic-testing-for-liver-disease. Erişim tarihi: 30.12.2016.
- 18.Önür ND, Beyler AR. Safra asitleri metabolizması. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2001; 54(1): 65-76.
 - 19.Qureshi MY, Smith SM, Murphy GM. Colorimetric enzymatic measurement of serum total 3 alpha-hydroxy bile acid concentrations without extraction. J Clin Pathol 1984;37(3): 317-20.
 - 20.Rothuizen J, Bunch SE, Charles JA, Cullen JM, Desmet VJ, Szatmari V, Twedt DC, van Den Ingh T, van Winkle TJ, Washabau RJ. WSAVA Standarts for Clinical and Histological Diagnoses of Canine and Feline Liver Diseases. First Edition. p 144. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2006.
 - 21.Schlesinger DP, Rubin SI. Serum bile acids and assessment of hepatic function in dogs and cats. Can Vet J 1993; 34: 215-220.
 - 22.Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika 1965; 52(3/4): 591-611.
 - 23.Sharma KR. Review on bile acid analysis. Int J Pharm Biomed Sci 2012; 3(2): 28-34.
 - 24.Simpson JW, Else RW. Digestive disease in the dog and cat (Library of Veterinary Practice). p 300. Wiley-Blackwell, USA, 1991.
 - 25.Stockham SL, Scott MA. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. p 908. USA: Wiley-Blackwell, 2013.
 - 26.Willard MD, Tvedten H. Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. Fourth Edition. p 448. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004.

Sorumlu Yazar:

Prof. Dr. Arif ALTINTAŞ

Ankara Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Ankara-TÜRKİYE

Tel: 0312 3170315/4420

E-posta: aaltintas@ankara.edu.tr