

Sağlıklı buzağlarda yüksek ve düşük doz sisaprid, betanekol ve kombinasyonlarının abomazum motilite ve boşalma oranına etkisi

Hasan GUZELBEKTES^{1,2} Vahdettin ALTUNOK³ Yılmaz KOÇ⁴

Muammer ELMAS⁵ İsmail ŞEN^{1,6}

¹ Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD, Konya – Türkiye

² Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Bişkek – Kırgızistan

³ Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya AD, Konya – Türkiye

⁴ Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi AD, Konya – Türkiye

⁵ Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji AD, Konya – Türkiye

⁶ Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD, Lefkoşa – Kıbrıs

Özet: Sığırlarda paralitik ileus, sekum dilatasyonu/dislokasyonu ve abomazum hipotonisi gibi hastalıklar önemli oranda verim kayıplarına neden olabilmektedir. Ruminantlarda gastrointestinal motilite düzenleyicileri hakkında bilgiler yetersizdir. Bu çalışmada sisaprid ve betanekol'un iki farklı dozunun ve kombinasyonların sağlıklı buzağların abomazum motilitesi ve boşalma oranı üzerindeki etkinlikleri dört farklı metotla belirlendi. Hayvan materyalini doğumu takiben 4-5 günlük yaşta, sağlıklı toplam 10 adet buzağı oluşturdu. Her buzağında yüksek ve düşük doz sisaprid, betanekol ve kombinasyonlarının uygulanmasını takiben 30 dakika sonra süt ikamesi içirildi. Buzağılardan 12 saat süresince aralıklı olarak kan örnekleri alındı. Abomazal motilite ve boşalma oranı asetaminofen absorpsiyon testi, ultrasonografik metot, abomazal intraluminal basınç ve glikoz değişim grafiği ile değerlendirildi. Kontrol amacıyla sağlıklı toplam 5 adet (4-5 günlük) buzağı kullanıldı. Buzağılar süt ikamesi (60 ml/kg) ile günlük olarak aynı saatlerde beslendi. Ultrasonografik yarı ömür ve β sonuçları irdelendiğinde, sadece süt ikamesi verilen kontrol grubuna göre tüm ilaç uygulamalarının bu değerlerinin daha küçük olduğu ($p < 0.05$) belirlendi. Asetaminofen zaman-konsantrasyon eğrilerinde, ilaçların ortalama 120-300. dakikalar arasında en yüksek yoğunluğa ulaştığı belirlendi. Abomazal boşalma hız ve derecesinin belirlenmesinde *Area Under Curve* (AUC, biyoyararlanım eğrisi altında kalan alan) değerlendirildi ve belirlenen AUC₀₋₁₂₀ değerinin sisaprid ve kontrol gruplarına kıyasla, betanekolün tek başına ve kombine uygulandığı gruplarda istatistiksel açıdan önemli olduğu ($p < 0.05$) tespit edildi. Sonuç olarak; ultrasonografik yarı ömür ve asetaminofen absorpsiyon testinin değerlendirilmesi doğrultusunda her iki dozda betanekol uygulaması sonrasında elde edilen AUC₀₋₁₂₀ değerlerinin sisaprid ve kombine uygulamalara göre daha hızlı abomazal boşalmaya sebebiyet verdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: buzağı, abomazal boşalma, sisaprid, batanekol, asetaminofen absorpsiyon testi

The effects of lower and higher dosage cisaprid, bethanechol and theirs combinations on abomasal motility and emptying rate of healthy calves

Abstract: Diseases of cattle that cause motility disorders of the gastrointestinal tract like paralytic ileus, cecal dilatation/dislocation, and displacement of the abomasum are the important abdominal disorders with great economic loss. Information about modifiers of gastrointestinal motility of cattle are sparse. In this study, effect of two different doses and mixture of cisaprid and bethanechol on abomasal motility and emptying rate of healthy calves were evaluated by four different methods. Ten healthy calves (4-5 days) were used in this study. Calves were fed milk replacer daily at the same times. After thirty minutes following the administrations high and low dose and mixture of cisaprid and bethanechol each calf was fed with milk replacer. Abomasal motility and emptying rate of calves were determined by ultrasonograph, acetaminophen assay tests, intraluminal pressure and glucose absorption curve. Venous blood samples obtained periodically from the calves in the experimental period. The results of ultrasonographic half-life, T_{max} and β show that these values of all drugs administration were smaller ($p < 0.05$) according to control group given the only milk replacer. Acetaminophen time-concentration curve show that concentration of

administered all drugs were reached the highest concentration between 120 to 300 minutes. As the value of the T_{max} and AUC_{0-120} , bethanechol in alone and combine administered groups was detected significantly ($p < 0.05$) compare with cisaprid and control groups. As a result, the value of AUC_{0-120} of ultrasonographic half-life and acetaminophen absorption test show that bethanechol was more effect compare to cisaprid and combination group on abomasal motility and emptying rate of healthy calves.

Keywords: calves, abomasal emptying, cisaprid, bethanechol, acetaminophen absorption test

GİRİŞ

Sığırlarda gastrointestinal sistem (GİS) motilitesinin düzenlenmesi henüz tam olarak açıklanamamıştır (1). Gastrointestinal motilitenin miyojenik, nöral ve kimyasal olarak düzenlendiği kabul edilmektedir. Bununla birlikte son yıllarda bağırsaklardaki pacemaker hücreleri olarak tanımlanan intersititial cajal hücrelerinin (ICC) de motilite üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (1-3). İntestinal sistem kontraksiyonlarının yoğunluğu ve sıklığı, parasempatik/semptomatik sistem ve hormonlarla düzenlenir. Bağırsaklardaki en önemli nörotransmitter madde asetilkolindir (ACh). ACh düz kas hücrelerinde tip-2 muskarinik reseptörler aracılığıyla, kontraksiyonları artırır (4).

Abomazal hipomotiliteli buzağı ve sığırlarda medikal tedavi uygulanması pratikte yaygın olmasına rağmen, tedavinin etkinliği ile ilgili veriler yetersizdir (5). Abomazal hipomotiliteden şüphelenilen buzağı ve sığırların tedavisinde öncelikle hipokalsemi, endotoksemi, alkalemi, hiperinsulinemi, hiperglisemi ve gram negatif bakteriyel enfeksiyonların eliminasyonu üzerinde odaklanılmaktadır (6,7). Bazı araştırmacılar abomazal hipomotilite veya sekum dilatasyonu/dislokasyonu gibi GIS motilite yetersizliklerinde prokinetik etkili ilaçların kullanılmasını tavsiye etmektedirler (8,9). Prokinetik ilaçlar GIS düz kas kontraksiyonlarını artırarak gıda geçişini hızlandırır (10). Bu etkilerinden dolayı prokinetik ajanlar gastrik, pilorik ve ince barsak motilitesinin restorasyonuna, koordinasyonuna ve stimilasyonuna katkı sağlayabilir. Aynı zamanda prokinetik ajanlar abomazal atoninin önlenmesinde ve tedavisinde de faydalı olabilir. Çünkü prokinetik ajanlar; bu etkilerini motor aktivite üzerinde inhibitör transmitterlerin etkisini azaltarak veya zıt etkili ajanların stimülasyon etkilerini destekleyerek gerçekleştirirler (11,12).

Karbokolün metil türevi olan betanekol, muskarinik reseptör agonisti olup, üriner sistem ve gastrointestinal sistem, düz kas hücrelerinin kontraksiyonlarını artırır (13). Asetil kolin reseptör antagonisti olan betanekol muskarinik M_2 reseptörlerini direkt uyarır ve düz kas hücrelerinin kontraksiyonunu stimüle eder (14). Betanekol'un sığırlarda sekum dilatasyonu/dislokasyonunun tedavisinde uygun motilite modülatörü olabileceği belirtilmektedir (1). Steiner ve Roussel (13) sağlıklı sığırlarda 0.07 mg/kg dozunda betanekol'un ileosekalkolik bölgesinin miyoelektrik aktivitesini artırdığını ifade etmiştir. Roussel ve ark (14) ise, 0.07 mg/kg dozunda (SC) betanekol'un abomazum ve duodenumun miyoelektrik aktivitesini artırdığını fakat abomazal boşalma oranını değiştirmediğini bildirmiştir.

Metaklopramid'in yan zincirlerinin modifikasyonu ile elde edilen sisaprid'in, metaklopramid gibi antidopaminerjik özelliği yoktur. Sisaprid mide kontraksiyonlarını düzenlediği gibi, tüm GIS boyunca motilite artışına neden olabilir (15). Sisaprid bağırsaklardaki myenterik plexusda postgangliyonik sinir uçlarından asetilkolin salınımını artırır ve myenterik plexuslarda 5-HT'in inhibitör etkisini antogonize ederek etkisini gösterir (16). Farelerde morfinle oluşturulan gastrointestinal geçiş bozukluklarının sisaprid uygulanmasıyla düzeldiği gözlenmiştir (17). Ayrıca tam olarak etki mekanizması bilinmemesine rağmen, sisaprid'in ponilerde barsaklar boyunca motiliteyi artırdığı da gözlenmiştir (18). Özefagus, mide, ince bağırsaklarda ve kolonda

motiliteyi metaklopromidden daha çok artırmaktadır. Dopaminerjik ve emetik etkili olmadığı için metaklopromide göre yan etkileri de daha azdır (19). Burger ve ark (12), Labrador Retrievers ve Baegellarda metoklopramid ve sisapridin etkilerini araştırmış ve her iki ilacın da düşük konsantrasyonlarının (metaclopramide 0.3 mg/kg, sisaprid 0.2 mg/kg) Beagellarda antral kontraksiyonu artırdığını, fakat Labrador Retrieverlarda ise düşük doz sisapridin kontraksiyonu üzerinde etkili olmadığını gözlemişlerdir. Aynı araştırmada adı geçen iki ilacın yüksek doz uygulamalarının (metaclopramide 0,6 mg/kg, sisaprid 0,5 mg/kg) her iki ırk köpeklerde de antral kontraksiyon artışına neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan karşılaştırılmalı çalışmalar, sisaprid'in metaklopramide göre gastrik boşalmayı stimule etmede daha etkili olduğunu ortaya konmuştur (20). Sisaprid'in prokinetik etkileri ile ilgili değişik hayvan türlerinde araştırmalar yapılmıştır. Fakat sığır ve buzağılarda abomazal boşalma ve motilite üzerinde etkisi tam olarak aydınlatılamamıştır (1). Sağlıklı sığırlarda yapılan çalışmada, 0,08 mg/kg dozda IV sisaprid uygulamasının iliasekrekolik bölgede, myoelektriksel aktivite üzerine etki göstermediği belirtilmiştir (13).

Sığırlarda gastrointestinal motiliteyi değerlendirmek amacıyla; cobalt-EDTA, polyethylen glycol, D-xylose veya phenol red gibi absorbe olmayan işaretleyici boya dilüsyonları, duodunal re-entrant kanül uygulanması, radyografi, nükleer sintigrafi, elektomyografi, abomazal pH'nın ölçümü, abomazal lüminal basınç değişimleri, asetaminofen absorpsiyon testi, ultrasonografi ve glukoz absorpsiyon testi gibi *in vivo* teknikler kullanılmaktadır (21-23).

Sunulan bu araştırmada sisaprid ve betanekol'un iki farklı dozunun ve kombinasyonların sağlıklı buzağuların abomazum motilitesi ve boşalma oranı üzerindeki etkinlikleri dört farklı metotla belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyali

Araştırmada 4-5 günlük, Holstein ırkı ve 30-35 kg canlı ağırlığında 10 adet sağlıklı buzağı kullanıldı. Buzağular her gün aynı saatlerde (sabah-akşam) 60 ml/kg süt ikamesi verildi ve sürekli su almaları sağlandı. Buzağuların süt ikamesini içiş süresi 3-6 dakika arasındaydı. Çalışmaya dahil edilen her buzağı yaklaşık 25 gün süresince kliniğimizde tutuldu ve çalışma sonunda tüm buzağular normal yaşamlarına döndü. Çalışma sırasında iki buzağının durumu kötüleşmiş ve çalışmadan çıkartılmıştır. Ölen buzağuların sonuçları kullanılmadı, ölen buzağuların yerine yeni buzağular ilave edildi.

Gruplar ve Denemeler

Her buzağıya modifiye latin kare dizayn sistemi dahilinde ilaç uygulaması yapıldı. Bu araştırmayla ilgili latin kare dizaynı aşağıdaki gibi oluşturuldu; buzağulara uygulanan 4 farklı uygulamanın sıralanması (1234*, 2341, 3412,4123) çalışma öncesi yapıldı. Uygulanan Latin kare dizaynı sayesinde tüm buzağulara doğumu takiben aynı günlerde aynı ilaç uygulaması yerine, rakamlarla belirtilen sıralama dahilinde (1.sisaprid, 2.betanekol, 3. kombinasyon, 4. süt ikamesi) ilaç uygulaması yapıldı.

Betanekol, sisaprid ve kombinasyon (betanekol+sisaprid) uygulaması yapılan buzağulara ilaç uygulaması yapıldıktan üç gün sonra ikinci bir uygulama yapıldı. Yani iki ilaç uygulaması arasında en az 72 saat ilaçların vücuttan atılımı (yasal arınma süresi) için beklenildi.

Deneme amaçlı içirilen her süt ikamesi içersine 25 gram/L glikoz ve 50 mg/kg asetaminofen ilavesi yapıldı. Buzağulara süt ikamesi içirilmesini takiben 240 dakika süresince ultrasonografik metot ve intra luminal basınç ölçümleri yapıldı. 720 dakika (12 saat) süresince

asetaminofen ve glikoz seviyesinin belirlenmesi için periyodik olarak kan örnekleri alındı.

İlaçların düşük ve yüksek doz kullanımlarındaki farklı etkileri gözlemlemek amacıyla iki farklı çalışma dizaynı oluşturuldu.

Çalışma 1 (düşük doz ilaç uygulaması): Toplam 5 buzağı üzerinde yürütüldü.

1. Sisaprid uygulaması; 0.5 mg/kg, sisaprid, IM uygulandıktan 30 dakika sonra süt ikamesi içirildi, sisaprid uygulamaları 12 ve 24 saat sonra tekrar edilerek toplam 3 uygulama yapıldı.

2. Betanekol uygulaması; 0.07 mg/kg, betanekol, IM uygulandıktan 30 dakika sonra süt ikamesi içirildi, betanekol uygulaması 12 ve 24 saat sonra tekrar edilerek toplam 3 uygulama yapıldı.

3. Sisaprid+betanekol kombinasyonu uygulaması; 0.07 mg/kg, betanekol + 0.5 mg/kg sisaprid, IM uygulandıktan 30 dakika sonra süt ikamesi içirildi, sisaprid+betanekol kombinasyonu 12 ve 24 saat sonra tekrar edilerek toplam 3 uygulama yapıldı.

4. Süt ikamesi uygulaması (kontrol grubu); Her buzağıya 0., 12., 24. saatlerde deneme amaçlı süt ikamesi içirildi fakat her hangi bir ilaç uygulaması yapılmadı.

Çalışma 2 (yüksek doz ilaç uygulaması): Toplam 5 buzağı üzerinde yürütüldü.

1. Sisaprid uygulaması; 1.0 mg/kg, sisaprid, IM uygulandıktan 30 dakika sonra süt ikamesi içirildi, sisaprid uygulamaları 12 ve 24 saat sonra tekrar edilerek toplam 3 uygulama yapıldı.

2. Betanekol uygulaması; 0.14 mg/kg, betanekol, IM uygulandıktan 30 dakika sonra süt ikamesi içirildi, betanekol uygulaması 12 ve 24 saat sonra tekrar edilerek toplam 3 uygulama yapıldı.

3. Sisaprid+betanekol kombinasyonu uygulaması; 0.14 mg/kg, betanekol + 1.0 mg/kg sisaprid, IM uygulandıktan 30 dakika sonra süt ikamesi içirildi, sisaprid+betanekol kombinasyonu 12 ve 24 saat sonra tekrar edilerek toplam 3 uygulama yapıldı.

4. Süt ikamesi uygulaması (kontrol); Her buzağıya 0., 12., 24. saatlerde deneme amaçlı süt ikamesi içirildi fakat her hangi bir ilaç uygulaması yapılmadı.

Biyokimyasal analizler: Buzağılardan sürekli kan alınması esnasında stres oluşturmamak için çalışma öncesi *V. Jugularis*'e intravenöz kataterleri takıldı. Plazma asetaminofen ve glikoz konsantrasyonlarının ölçümleri için süt ikamesi içirilmeden önce (0. değer) ve içirdikten sonra 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 360, 480 ve 720. dakikalarda EDTA'lı kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri santrifüj edilerek plazma elde edildi ve ölçüm yapılmaya kadar -20 °C'de saklandı. Plazma asetaminofen ve glikoz konsantrasyonları ticari kitlerle (Sigma Chemical Co, St. Louis MO) spektrofotometrede ölçüldü.

Abomazal hacim değişimlerinin ultrasonografik metot ile belirlenmesi: Muayene öncesi buzağuların ventral abdomenleri tıraş edildi, 3.5 mHz konveks prob kullanarak abomazal volüm değişimlerinin süt ikamesi içirilmeden önce (0.değer) ve içirildikten sonra. 30. 60., 90., 120., 180. ve 240. dakikalarda ultrasonografik muayeneleri yapıldı.

Abomazumun orta hatta (linea alba) göre yan mesafeleri (sol ve sağ yan mesafeleri) ve abomazumun ön ve arka sınırlarının sternuma uzaklıkları fleksibl bir mezro ile ölçüldü. Ayrıca abomazumun retro-dorsal yüksekliği de belirlendi. Tüm ölçümler abomazumun serozal yüzeylerinden alındı. Süt veya benzeri sıvı gıda ile dolan abomazum elips şeklini almaktadır. Bu sebeple abomazal alan; ultrasonografik muayene ile ölçülen yan ve boy mesafe uzunlukları kullanılarak bir elips alanı için kullanılan formül yardımıyla belirlendi (Alan: yan mesafesi x boy mesafesi x $\pi/4$, π : 3.142). Abomazal völüm ise; ultrasonografik muayene ile ölçülen yan

mesafesi, boy mesafesi ve derinlik ölçümleri kullanılarak bir elips alanı için kullanılan formül yardımıyla belirlendi (Abomazal völüm: yan mesafesi x boy mesafesi x derinlik x $\pi/6$) (24).

Abomazum lumeninde basınç ölçümü: Abomazal intra lüminal basınç süt ikamesi içirilmeden önce (0. değer) ve içirdikten sonra 30. 60., 90., 120., 180. ve 240. dakikalarda özel basınç ölçüm cihazıyla cıva basınç değeriyle ölçüldü.

Farmakokinetik hesaplamalar: Ultrasonografi sonuçlarına göre yarılanma ömrü ($t_{1/2\lambda z}$) ve terminal dönem hız sabitesi olan β değeri nonkompartmantal modele göre paket program (WinNonlin 4.1, Pharsight Corporation, North Carolina, USA) yardımıyla hesaplandı. AUC (eğrinin altındaki alan) hesaplanmasında log/linear trapezoidal yöntem uygulandı. Asetaminofen ve glukoz için maksimum konsantrasyon (C_{maks}) ve bu konsantrasyona ulaşma zamanı (T_{maks}) her bir uygulama grubunun ortalama değerleri ile çizilen zaman konsantrasyon eğrisinin direk bakışı ile elde edildi.

İstatistiksel analiz: Sonuçlar ortalama \pm SD olarak sunuldu. Yarılanma ömrü ($t_{1/2}$), β ve AUC değerleri için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile istatistiki önem kontrolü yapıldı. $P<0.05$ istatistiksel önem sınırı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Klinik görünüm: Yüksek ve düşük doz sisaprid, betanekol ve kombinasyon uygulanmasını takiben toplam 6 buzağıda denemenin farklı saatlerinde (genellikle denemenin 180. saat ve sonrasında) ishaller gözlenmiştir. Oluşan ishal buzağuların genel durumunu etkileyecek düzeyde değildi ve deneme süresince herhangi bir ilaç uygulaması yapılmamıştır. Düşük ve yüksek doz kombinasyon tedavisi uygulanan 3 buzağıda ise denemenin farklı saatlerinde (denemenin 120. saat ve sonrasında) salya artışı gözlenmiştir.

Abomazal boşalma oranının ultrasonografik olarak değerlendirilmesi: Abomazal boşalma hızının göstergesi durumunda olan ultrasonografik yarı ömür ve β sonuçları irdelendiğinde, sadece süt ikamesi verilen kontrol grubuna göre tüm ilaç uygulamalarının bu değerlerinin istatistikî açıdan anlamlı düzeyde daha küçük olduğu ($p<0.05$) belirlendi (Tablo 1). Düşük ve yüksek doz betanekol uygulamalarında ise diğer ilaç uygulamalarının bazılarında istatistiksel olarak önemli oranda ($p<0.05$), bazılarında da önemsiz düzeyde ($p>0.05$) olmak üzere betanekol uygulamalarında daha kısa bir yarı ömür elde edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Düşük ve yüksek doz sisaprid, betanekol ve betanekol/sisaprid kombinasyonun oral yolla süt ikamesi içirilen buzağılardaki abozamal boşalma parametreleri üzerine etkileri.

	İkame	Sisaprid		Betanekol		Betanekol		Kombine	
		1.gün	2.gün	1.gün	2.gün	1.gün	2.gün		
Düşük Doz	t ½ (dakika)	79.85 ± 12.54 B	71.97 ± 4.43 bc	59.86 ± 8.65 c	63.91 ± 7.33 bc	72.84 ± 11.07 bc	77.19 ± 17.42 b		
	β (dakika⁻¹)	0.0069 ± 0.0011 a	0.0088 ± 0.0013 B	0.018 ± 0.0016 d	0.011 ± 0.0014 cd	0.0097 ± 0.0014 bc	0.0094 ± 0.0021 bc		
	C maks (µg/cl)	23.84	22.45	31.65	33.45	26.83	29.64		
T maks (dakika)	300	300	180	150	360	300			
AUC₀₋₁₂₀ (µg.dakika/ml)	199.51 ± 57.17 a	218.39 ± 56.80 A	195.11 ± 94.28 a	214.27 ± 30.79 a	172.52 ± 62.99 a	219.74 ± 82.54a			
Yüksek Doz	C maks (mg/dl)	112.568	126.658	119.601	117.145	117.465	117.999		
	T maks (dakika)	180	240	150	240	120	60		
	AUC₀₋₁₂₀ (mg.dakika/dl)	10666.2 ± 2209 a	12535 ± 1318 A	13058 ± 2160 a	12987 ± 2962 a	12782 ± 2415 a	13285 ± 3151 a		
Düşük Doz	t ½ (dakika)	79.85 ± 12.54 B	71.97 ± 4.43 bc	59.86 ± 8.65 c	63.91 ± 7.33 bc	72.84 ± 11.07 bc	77.19 ± 17.42 b		
	β (dakika⁻¹)	0.0069 ± 0.0011 a	0.0088 ± 0.0013 B	0.018 ± 0.0016 d	0.011 ± 0.0014 cd	0.0097 ± 0.0014 bc	0.0094 ± 0.0021 bc		
	C maks (µg/cl)	23.84	22.45	31.65	33.45	26.83	29.64		
T maks (dakika)	300	300	180	150	360	300			
AUC₀₋₁₂₀ (µg.dakika/ml)	199.51 ± 57.17 a	218.39 ± 56.80 A	195.11 ± 94.28 a	214.27 ± 30.79 a	172.52 ± 62.99 a	219.74 ± 82.54a			
Yüksek Doz	C maks (mg/dl)	112.568	126.658	119.601	117.145	117.465	117.999		
	T maks (dakika)	180	240	150	240	120	60		
	AUC₀₋₁₂₀ (mg.dakika/dl)	10666.2 ± 2209 a	12535 ± 1318 A	13058 ± 2160 a	12987 ± 2962 a	12782 ± 2415 a	13285 ± 3151 a		

a, b, c: Aynı satırda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önem arz eder (p<0.05).

A, B: Aynı sütunda farklı harf içeren gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önem arz eder (p<0.05).

Asetaminofen absorbiyon testi ile değerlendirme: Tüm gruplardaki asetaminofen zaman-konsantrasyon (T_{max}) eğrileri incelendiğinde, ilacın ortalama 120- 300. dakikalar arasında en yüksek yoğunluğa ulaştığı belirlendi. Abomazal boşalma hız ve derecesinin göstergesi olarak belirlenen AUC_{0-120} değerinin ise betanekolün tek başına ve kombine uygulandığı gruplarda önemli ($p<0.05$), diğerlerinde ise önemsiz derecelerde ($p>0.05$) de olsa yüksek olduğu tespit edildi. Betanekol uygulanan buzağılarda abomazumun daha erken boşaldığı görüldü.

Abomazal lumen içi basınç değişimleri: Süt ikamesinin içirilmesini takiben abomazal intra luminal basınç değişimleri 30. dakikada artış göstermiştir. Bu artış denemenin 120. dakikasına kadar sürmüştür (Tablo 2).

Tablo 2. Düşük ve yüksek dozlarda uygulanan sisaprid, betanekol ve kombinasyonlarının oral yolla süt ikamesi içirilen buzağılardaki abomazal intra luminal basınç (mm Hg) üzerine etkisi (veriler birinci ve ikinci günlerin ortalamalarıdır)

	0.dk		30.dk		60.dk		90.dk		120.dk		180.dk		240.dk	
	DD	YD	DD	YD	DD	YD	DD	YD	DD	YD	DD	YD	DD	YD
Sisaprid, 1. gün	4.5	2.8	5.5	6	6	5.6	7.4	5.2	6.2	4.2	5.25	3.8	5	3.2
Sisaprid 2. gün	6	3	6.8	6.2	7.2	5	4.8	4.6	6.6	4.6	5.6	3.6	5.6	3.4
Betanakol 1. gün	4.4	3.4	5.6	5.6	7.8	5	6.2	4.8	6.8	4.2	5.4	3.6	6	2.8
Betanakol 2. gün	5.6	3	6.8	6	6.8	5	5.75	4.4	6	4.4	6.2	4.4	5.6	3.4
Kombine 1. gün	6	3.2	6.8	5.6	7.2	5.2	6.4	6	6	4.75	6	3.25	5.8	3
Kombine 2. gün	5.4	3	6	7	6.6	6	6	5	6.4	4	5.6	4	6.25	3

DD: düşük doz, YD: yüksek doz

EKG Bulguları: Düşük ve yüksek doz sisaprid, betanekol ve kombinasyonlarının uygulanması sonucu kalp frekansında deneme süresince belirgin değişimler tespit edilememiştir. (Tablo 3, 4).

Tablo 3. Düşük doz sisaprid (0.5 mg/kg), betanekol (0.07 mg/kg) ve kombinasyonlarının oral yolla süt ikamesi içirilen buzağılardaki kalp frekansı (kalp frekansı/dakika) üzerine etkisi (veriler birinci ve ikinci günlerin ortalamalarıdır)

	-30.dk.	0.dk	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	180.dk	240.dk	300.dk	360.dk
Sisaprid, 1. gün	130	141.5	113.6	108.8	109.4	104.2	105.4	108.25	110.75	106.25
Sisaprid 2. gün	109	112.2	94.2	94.8	100.4	106.2	109.4	107.4	110.6	111.4
Betanakol 1. gün	109	94.2	97	92.4	95	106	106.8	118	110.25	126.6
Betanakol 2. gün	96	101.6	102	102	100.6	99	112.2	105.6	113.25	107.5
Kombine 1. gün	101.75	103.8	105.8	111.2	108.2	105	122	121.8	125.8	121.6
Kombine 2. gün	113	108.6	100.8	94.2	100.2	100.2	105.5	115	111	107.25

Tablo 4. Yüksek doz sisaprid (1.0 mg/kg), betanekol (0.14 mg/kg) ve kombinasyonlarının oral yolla süt ikamesi içirilen buzağılardaki kalp frekansı (kalp frekansı/dakika) üzerine etkisi (veriler birinci ve ikinci günlerin ortalamalarıdır)

	-30.dk.	0.dk	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	180.dk	240.dk	300.dk	360.dk
Sisaprid 1. gün	111.6	114.4	106.8	101.2	102.2	102.8	103.4	111.2	110.2	111.6
Sisaprid 2. gün	111.2	110.6	112	107.2	106.6	107.6	107	107.4	102.2	104
Betanekol 1. gün	109.4	113.2	112.4	112.6	115.6	119.6	109.2	113.6	103.8	114.8
Betanekol 2. gün	113.2	91.6	97.6	106.8	106.6	103.6	113	102.6	103	108.4
Kombine 1. gün	103.8	118	111.2	117.8	130.4	118.8	119.8	130.2	129.2	127.4
Kombine 2. gün	113.6	110	113.8	125	114.2	113.6	120.8	116.8	119.6	115

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sisaprid ve betanekol'un prokinetik etkileri ile ilgili değişik hayvan türlerinde araştırmalar yapılmış, fakat buzağılarda abomazal boşalma hızına etkileri tam olarak aydınlatılamamıştır (1). Betanekol'un sığırlarda spontan olarak gelişen sekum dilatasyonu/dislokasyonunun medikal ve cerrahi sonrası tedavisi için uygun motilite modülatör olabileceği ve sağlıklı sığırlarda 0.07 mg/kg dozunda betanekol'un ileosekakolik bölgesinin miyoelektrik aktivitesini artırdığı belirtilmiştir (13). Bu araştırmada sağlıklı buzağılara 12 saat aralıkla 3 kez düşük veya yüksek doz betanekol uygulanmasının sisaprid uygulanmasına kıyasla abomazal boşalma hızını artırdığı tespit edilmiştir. Kontrol grubu buzağılarda plazma asetaminofen T_{max} konsantrasyonu 300 dakika iken, düşük doz betanekol uygulanan buzağılarda bu değer 1. günde 180, ikinci günde ise 120 dakika, yüksek doz betanekol uygulanan buzağılarda ise 1. gün 180, 2. gün ise 150 dakika olarak belirlenmiştir. Plazma asetaminofen T_{max} sonuçları ile ultrasonografik T_{max} sonuçları birbirleriyle paralellik göstermiştir (Tablo 1). Betanekol bir muskarinik agonist reseptörüdür ve üriner sistem ve gastrointestinal sistem, düz kas hücrelerinin kontraksiyonlarını artırır (13). Asetil kolin reseptör antagonisti olan bethanekol muskarinik M_2 reseptörlerini direkt uyararak düz kas hücrelerinin kontraksiyonunu sitimüle eder (14). Sunulan bu araştırmada, hem düşük doz, hem de yüksek doz betanekol uygulamasını takiben süt ikamesinin ultrasonografik yarılanma ömrü, sisaprid ve kombinasyon uygulamasına göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde hem ultrasonografik, hem de asetaminofen AUC konsantrasyonları değerlendirildiğinde de, tek başına betanekol uygulanan buzağılarda abomazal boşalma hızının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu bulgulara göre **Steiner ve Roussel (13)** in betanekol'un ileosekakolik bölgenin miyoelektrik aktivitesini artırdığı yönündeki ilk gözlemlerinin klinik ve güncel metodlarla desteklendiği görülmüştür.

Sisaprid, gastrik stasis, gastroözefageal reflüks ve postoperatif ileus tedavilerinde etkilidir. Dopaminerjik ve emetik etkili olmadığı için metaklopramide göre yan etkileri daha azdır (19). Araştırmamızda, sağlıklı buzağılara düşük/yüksek doz sisaprid uygulamasının kontrol gruptaki buzağılarla kıyasla abomazal boşalma oranını artırdığı tespit edilmiştir (Tablo 1). İlaç uygulaması yapılmaksızın sadece süt ikamesi içirilen buzağılarda plazma asetaminofen T_{max} konsantrasyonu 300 dakika iken, düşük doz sisaprid uygulanan buzağılarda ise bu değer 1. günde 180, ikinci günde ise 120 dakika, yüksek doz sisaprid uygulanan buzağılarda ise 1. ve 2. gün 240 dakika olarak belirlenmiştir. Plazma asetaminofen sonuçları ile ultrasonografik sonuçlarda birbirleriyle paralellik göstermiştir (Tablo 1). Hem ultrasonografik hem de asetaminofen AUC

konsantrasyonları değerlendirildiğinde ise, tek başına sisaprid uygulanan buzağılarda abomazal boşalma hızının kontrol grubu buzağılara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Oral uygulandıktan sonra asetaminofenin plazma konsantrasyonu, emilim, metabolizma, dağılım ve temizlenme hızına bağlıdır. Gastrointestinal kanaldan bir ilacın emilimi; mide boşalma hızı, lümenal pH, lümeninde bağlayıcı maddelerin bulunması, yüzey alan, lokal kan akışı, luminal bakteriler veya gastrointestinal epitel hücreler tarafından ilacın metabolizması gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Buzağılarda abomazal motilitenin değerlendirilmesinde asetaminofen absorpsiyon testinin güvenilir olduğu kabul edilmektedir (23,25,26). Sunulan bu çalışmada betanekol, sisaprid ve kombinasyon uygulamalarına bağlı olarak sağlıklı buzağılarda abomazal boşalma oranları, ultrasonografik ve plazma asetaminofen temelinde maksimal plazma konsantrasyonu (aktüel T_{max}) grafiksel olarak da değerlendirildiğinde; betanekol uygulaması yapılan buzağılarda sisaprid ve kombinasyon uygulaması yapılan buzağılara göre abomazumdan daha hızlı boşalarak maksimal plazma konsantrasyona ulaştığı tespit edilmiştir. Marshall ve ark, (23) plazma T_{max} değerinin ve AUC 'nin abomazal boşalma hızını değerlendirme de gerçek tahmini sonuç vereceğini belirtmiştir.

Abomazal luminal basınç sıvı veya katı gıda alınımını takiben değişmektedir. (27). 1.5 litre serum fizyolojik solüsyonunu buzağılara içirdikten sonra abomazum ve antrumdaki basıncı ölçmüş ve 5 cm H₂O (3.7 mmHg) basınç artışı gözlemiştir. Bu çalışmada, abomazal intra luminal basıç artışı 30. dakika dan itibaren başlamış ve denemenin 120. dakika süresince bu artış devam etmiştir (Tablo 2). Abomazal intra luminal basınç artışı betanekol uygulanan buzağılarda diğer gruptaki buzağılara kıyasla daha fazla idi. Wittek ve ark (24), 8.8 mg/kg dozda eritromisin uygulanan buzağılarda abomazal motilitenin ve intraluminal basıç artışının şekillendiğini gözlemiştir.

Sonuç olarak; Ultrasonografik yarı ömür ve plazma asetaminofen absorpsiyon test temelinde elde edilen AUC₀₋₁₂₀ ve T_{max} değerleri irdelendiğinde sağlıklı buzağılarda 0.07 mg/kg dozda betanekol'un sisaprid ve kombine uygulamalara göre daha hızlı abomazal boşalmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

AÇIKLAMA ve TEŞEKKÜR

Bu araştırma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 107O503).

KAYNAKLAR

1. **Steiner, A.** (2003) Modifiers of gastrointestinal motility of cattle. *Vet Clin Food Anim.* 19, 647- 660.
2. **Hudson, N.P., Pearson, G.T., Kitamura, N. & Mayhew, I.G.** (1999) An immunohistochemical study of interstitial cells of Cajal (ICC) in the equine gastrointestinal tract. *Res Vet Sci.* 66, 265- 267.
3. **Kim, Y.C., Koh, S.D. & Sanders, K.M.** (2002) Voltage-dependent inward currents of interstitial cells of Cajal from murine colon and small intestine. *J Physiol.* 541, 797-810.
4. **Lester, G.D., Merritt, A.M., Neuwirth, L., VetroWidenhouse, T., Steible, C. & Rice, B.** (1998) Effect of erythromycin lactobionate on myoelectric activity of ileum, cecum, and right ventral colon and cecal emptying of radiolabeled markers in clinically normal ponies. *Am J Vet Res.* 59, 328-334.
5. **Michel, A., Mevissen, M., Burkhard, T & Steiner A.** (2003) In vitro effects of cisaprid, metaclopramide and bethanechol on smooth muscle preparations from abomasal antrum and duodenum of dairy cows. *J Vet Pharmacol Therap.* 26, 413-420.

6. **Braun, U., Steiner, A., & Kaegi, B.** (1990) Clinical, haematological and biochemical findings and the results of treatment in cattle with acute functional pyloric stenosis. *The Vet Rec.* 126, 107-110.
7. **Nouri, M. & Constable, P.D.** (2006). Effect of parenteral administration of erythromycin, tilmicosin ve tylosin on abomasal emptying rate in suckling calves. *AJVR.* 68, 1392-1398.
8. Smith MA., Edwards GB., Dallap BL., Cripps PJ. And Proudman CJ. (2005). Evaluation of the clinical efficacy of prokinetic drugs in the management of post –operative ileus:can retrospective data help us. *Vet J* 170, 230-236.
9. **Constable, P.D., Wittek, T., Ahmed, A., Marshall, T.S., Sen, I. & Nouri, M.** (2006) Abomasal pH and emptying rate in the calf and dairy cow and the effect of commonly administered therapeutic agents. 24. World Buatric congress. Nice/France.
10. **Reynolds, J.C.** (1989) Prokinetic agents: a key in the future gastroenterology. *Gastroenterol. Clin. North Am,* 18,437-457.
11. **Washabau, R.J.** (2003) Gastrointestinal motility disorders and gastrointestinal prokinetic therapy. *Vet Clin Small Anim.* 33, 1007-1028.
12. **Burger, D.M., Wiestner, M., Hubler, M., Binder, H., Keisler, M. & Arnold, S.** (2006). Effect of antikolinergics (atropine, glycopyrrolate) and prokinetics (metaclopramide, cisapride) on gastric motility in Beagles and Labrador Retrieves. *J Vet Med A.* 53, 97- 107.
13. **Steiner, A. & Roussel, A.J.** (1995) Drugs coordinating and restoring gastrointestinal motility and their effect on selected hypodynamic gastrointestinal disorders in horses and cattle. *Zentralbl Veterinarmed A.* 42, 613–631.
14. **Roussel, A.J., Brumbaugh, G.W., Waldron, R.C. & Baired, A.N.** (1994) Abomasal and duodenal motility in yearling cattle after administration of prokinetic drugs. *Am J Vet Res.* 55, 111-115.
15. **Washabau, R.J. & Hall, J.A.** (1995) Cisapride. *J Am Vet Med Assoc.* 1285- 1288.
16. **Gerring, E.L.** (1991) Sir Frederick Hobday Memorial Lecture. All wind and water: some progress in the study of equine gut motility. *Equine Vet J,* 23: 81–85.
17. **Patil, C.S. & Kularni, S.K.** (2000) Effect of physostigmine and cisapride on morphine – induced delayed gastric transit in mice. *Ind J Pharmacol,* 32, 321-323.
18. **King, J.N., & Gerring, E.L.** (1988) Actions of the novel gastrointestinal agent cisapride on equine bowel motility. *J Vet Phamacol Ther.* 11, 4, 314.-321.
19. **Georgiadis, G.T., Markantonis-Kyroudis, S. & Triantafillidis, J.K.** (2000) Prokinetic agents: current aspect with focus on cisapride. *Annals of Gastroenterology,*13,4, 269- 289.
20. **Mc Hugh, S., Lico, S. & Diamant, N.E.** (1992) Cisapride vs metoclopramide. An acute study in diabetic gastroparesis. *Dig Dis. Sci,* 37, 997-1001.
21. **Lohmann, K.L., Roussel, J., Cohen, N.D., Boothe, M.D., Rakestraw, C.P. & Walker M.A.** (2000) Comparison of nuclear scintigraphy and acetaminophen absorption as a means of studying gastric emptying in horses. *Am J Vet Res.* 61, 3, 310 - 315.
22. **Nappert, G. & Lattimer, J.C.** (2001) Comparison of abomasal emptying in neonatal calves with a nuclear scintigraphic procedure. *Canadian J Vet Res.* 65, 50-54.
23. **Marshall, T.S., Constable, P.D. & Cronchik, S.** (2005) Determination of abomasal emptying rate in suckling calves by use of nuclear scintigraphy and acetaminophen absorption. *Am Vet Res.* 66; 364-374.
24. **Wittek, T., Tischer, K., Giesler, T., Füll, M. & Constable, P.D.** (2008) Effect of preoperative administration of erythromycin of flunixin meglumine on postoperative abomasal emptying rate in dairy cows undergoing surgical correction of left displacement of the abomasum. *JAVMA,* 232, 418-423.
25. **Sen, I., Constable, P.D., & Marshall, T.S.** (2006) Effect of suckling isotonic or hypertonic solutions of sodium bicarbonate or glucose on abomasal emptying rate in calves. *Am J Vet Res.* 67, 1377-1384.

26. **Sen, I., Altunok, V., Ok, M., Coskun, A. & Constable, P.D.** (2009) Efficacy of oral rehydration therapy solutions containing sodium bicarbonate or sodium acetate for treatment of naturally acquired diarrhea, moderate dehydration, and strong ion acidosis in calves. *JAVMA*, 234, 7, 926-934.
27. **Bell, F.R.** (1979) Digestive physiology and metabolism in ruminants. Proceedings of the 5th international symposium on ruminant physiology, held at Clermont-Ferrand, on 3rd-7th September, Ed Y. Ruckebusch and P. Thivend, MTP pres limited. pp.81-100.