

**AÇLIK KETOZİSİ VE KARBONTETRAKLORÜR TOKSİKASYONUNUN KOYUN-  
LARDA BROMSULFALEİN (BSP) KLİRENSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Mehmet B. Özlem<sup>1</sup>**  
**Erdoğan Yalçın<sup>4</sup>**

**Kürşat Turgut<sup>2</sup>**  
**Yakup Akgül<sup>5</sup>**

**Oğuz Erel<sup>3</sup>**  
**Mehmet Şahal<sup>1</sup>**

**The effect of starvation ketosis and carbontetrachloride toxication on bromsulphthalein (BSP) clearance**

**Summary:** *Bromsulphthalein (BSP) clearance as a quantitative liver function test in sheep has been described. In this study, the retention of BSP was detected from three groups of sheep: normal, starvation ketosis and carbontetrachloride toxication. To determine the optimum dosage levels of BSP, 5 and 15 mg per kilogram of body weight were injected the jugular vein of two groups of six sheep each. Blood samples were collected via the right jugular vein following the injection of either 5 or 15 mg BSP per kg of body weight into the left jugular vein. The calculation of the percentage of retention of BSP was measured at the 10 th minute. The results for sheep fasted for a period of 10 days showed that clearances were significantly lower than prefast clearances. The carbontetrachloride in oil were given orally as 0.5 ml per kilogram of body weight. Direct liver injury by carbontetrachloride poisoning greatly reduced the ability of the ovine liver to excrete BSP. These findings suggested that the BSP liver function test for sheep is useful if the dosage is increased sufficiently to compensate for the rapid clearance in this species.*

**Özet:** *Bromsulfalein klirensi koyunlarda kantitatif bir karaciğer fonksiyon testi olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada, BSP retensiyonu normal, açlık ketozisi ve karbontetraklorür toksikasyonlu 3 grup koyunda saptandı. Optimum doz seviyelerini tespit için BSP, 5 ve 15 mg/kg vucut ağırlığına herbiri 6 koyundan oluşan iki gruba V. jugularisten enjekte edildi. Kan örnekleri BSP'nin 5 ve 15 mg/kg dozlarında sol V. jugularisten enjeksiyonunu takiben sağ V. jugularisten alındı. BSP retensiyon yüzdesi 10. dakikada ölçüldü. 10*

1 Yrd. Doç., Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi, İç Hastalıklar Bilim Dalı, Ankara.

2 Araş. Gör., S.Ü. Veteriner Fakültesi, İç Hastalıklar Bilim Dalı, Konya.

3 Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bilim Dalı, Ankara.

4 Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, İç Hastalıklar Bilim Dalı, Ankara.

5 Araş. Gör., 100. Yıl Ü. Veteriner Fakültesi, İç Hast. Bilim Dalı, Van.

*gün aç bırakılan koyunlarda klirens açlık öncesi klirensten önemli derecede düşüktü. Karbontetraklorür yağ içinde 0.5 ml/kg dozda ağız yoluyla verildi. Karbontetraklorür ile direk karaciğer harabiyeti oluşturulan koyunlarda karaciğerin BSP atma yeteneği oldukça azaldı. Bu bulgular, doz hızlı klirens oranını karşılayacak şekilde artırılırsa koyunlarda BSP karaciğer fonksiyon testinin faydalı olduğunu gösterdi.*

## Giriş

Karaciğer, organizmadaki pekçok metabolik olayda önemli fonksiyonlara sahip bir organdır. Bütün metabolik, toksik ve enfeksiyöz hastalıklarda etkilenir. Yüksek üre içeren diyetler, spesifik protein yetersizliği veya fazla amonyak üretimi nedeniyle hepatotoksik etkilere neden olabilmektedir (12, 18). Stres karaciğer fonksiyonlarını etkileyebilir. Pekçok hormon ve ilaçlar karaciğerin detoksifikasyon ve safra ile atılımına bağlı olarak karaciğer fonksiyonlarında değişikliklere neden olurlar (9, 16). Ruminantlarda karaciğeri ve fonksiyonlarını etkileyen nedenler böylesine çok olmasına rağmen karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesi oldukça zordur. Bunun başlıca nedenleri; ruminantlarda karaciğerin tam muayenesinin anatomik nedenlerden dolayı yapılamaması ve karaciğer fonksiyon testlerinin kliniğimizde rutin olarak uygulanmamasıdır. Karaciğer fonksiyon testleri başlıca; a) Karaciğer yetmezliği, b) Hepatoselüler sarılıkları diğer tip sarılıklardan ayırt etmek, c) Klinik bakımdan şüpheli olan bir karaciğer hastalığının tanısını doğrulamak için kullanılır (13).

Karaciğer yetmezliğinin tanısında faydalı olan BSP testi, boya atımı ve sentezine dayanan bir testtir. BSP indikatör bir boyadır. BSP testi ile karaciğerin bazı boya maddelerini belli bir sürede organizmadan uzaklaştırma yeteneği ölçülür. Belli oranda intravenöz olarak verilen BSP plazma proteinleri ile birleşir. Karaciğer plazma proteinleriyle birleşen boyayı ayırır, sinüzoidlerdeki Kupfer hücreleri vasıtasıyla boyayı tutarak safrayla dışarı atılmasını sağlar. Kanda kalan BSP, alkali eklenmesiyle mavi renkli sodyum tuzunu oluşturur (2, 8, 13).

BSP testinin duyarlılığının hepatic kan akımı, karaciğer büyüklüğü, paranzim dokusunun sağlamlığı ve safra salgılama sistemiyle değişmesi, ruminantlarda karaciğer fonksiyonları için değerli bir test olduğunu gösterir (17).

Evcil hayvanlardaki BSP testi üzerindeki çalışmalarda testin öncelikle atlara ve sığırlara özgü olduğu bildirilmiştir (5, 15). Koyunlardaki ilk çalışmalar BSP testinin adaptasyonu ve karaciğerin çeşitli disfonksiyonlarında önemi üzerine olmuştur (17).

Tucker ve ark. (17), BSP'yi 5, 10, 15 ve 20 mg/kg dozlarda dört grup koyunda intravenöz yolla uygulamışlar ve sonuçta BSP'nin kan klirensini ölçmek için en uygun dozun 15-20 mg/kg olduğunu ve CCl<sub>4</sub> toksikasyonu oluşturdukları koyunlarda 15 mg/kg BSP dozu için ortalama % 12 BSP retensiyonu tesbit etmişlerdir.

Disque ve ark. (6), prematüre ve neonatal kuzularda BSP atılım kapasitesini ölçmek için kuzuların safra kanallarına kanül uygulamışlardır. Her iki grupta BSP'nin maksimum konsantrasyonlarını gözlemişler ve BSP atılım oranının büyük oranda safra üretim oranına bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Freese (11), geç doğum yapan ve ketozisli koyunlarda 15. ve 30. dakikada normalden daha fazla boya retensiyonu olduğunu saptamışlardır.

Cornelius ve ark. (4), sağlıklı ve klinik ketozisli koyunlarla yaptıkları çalışmada BSP'yi 2-5 mg/kg dozda uygulamışlar ve sağlıklı koyunlarda serumdaki BSP retensiyonunu 10. dakikada % 5.9  $\pm$  2.3 olarak, şiddetli klinik ketozisli koyunlarda ise 30. dakikada % 5-58 sınırları arasında değiştiğini gözlemişlerdir.

Forbes ve Singleton (10), BSP'yi 5 mg/kg standart doz şeklinde uyguladıkları çalışmalarında diyetin ve açlığın karaciğer BSP klirensini azalttığını saptamışlardır.

Bu çalışmada klinik muayene ile kesin tanısı konulamayan karaciğer fonksiyon bozukluklarının tanısı için BSP testinin rutin olarak kliniğimize yerleştirilmesi amaçlanarak normal, deneysel açlık ketozisi ve CCl<sub>4</sub> toksikasyonu oluşturulan koyunlarda BSP klirens değerleri araştırılmıştır. Koyunlarda BSP testi için verilerin sınırlı olması nedeniyle çalışma materyalini koyunlar oluşturmuştur.

### Materyal ve Metot

Çalışma materyalini A.Ü. Ziraat Fakültesi Çiftliğinden alınan 12 adet 10-12 aylık akkaraman erkek toklular oluşturdu. Deneme öncesi koyunlar kulak numaratorüyle numaralanıp, iç ve dış parazitlere

karşı ilaçlandılar. Beslenmeleri günlük besin maddeleri karşılanacak şekilde günde 3 kez gerçekleştirildi (14).

Bir aylık hazırlık döneminden sonra koyunlardaki normal, açlık ketozisi ve  $CCl_4$  toksikasyonlarındaki BSP klirens değerleri BSP testleriyle saptandı. Bu testlerde Bromsulfalein (Merck, Bromthamein) 5 mg/kg ve 15 mg/kg dozlar halinde 6 koyundan oluşan iki gruba uygulandı.

BSP testi için koyunların vena jugularislerinden 10 ml kan örnekleri alındıktan hemen sonra iki ayrı dozda BSP intravenöz enjekte edildi. Enjektörde boya kalıntısının kalmaması için iğne damardan çıkarılmadan bir miktar kan enjektöre çekilip damara geri verildi. Bu uygulamadan on dakika sonra yeniden 10 ml kan örnekleri alınarak serum BSP değerleri spektrofometrik olarak tesbit edildi (7).

Her iki doz için BSP testi iki defa yapıldı ve bulunan değerlerin ortalamaları normal serum BSP değerleri olarak kabul edildi.

Koyunlarda açlık ketozisi, sağlıklı koyunlarda normal BSP klirensinin saptanmasından sonra, hayvanların on gün aç bırakılmaları sonucunda oluşturuldu. Bu dönem süresince koyunlara sadece içme suları verildi.

Açlık ketozisindeki BSP klirensinin saptanmasından sonra koyunlar iki aylık normal beslenme dönemine alındılar. Bu dönemin sonunda her bir koyuna 0.5 ml/kg dozunda  $CCl_4$  sonda ile içirildi.  $CCl_4$  toksikasyonundaki BSP klirensi, toksikasyondan 48 saat sonra yapılan BSP testleri ile belirlendi.

### **Bulgular**

Koyunlarda on günlük açlık sonucunda oluşan hafif şiddetteki açlık ketosisinde durgunluk, ekspirasyon havasında aseton kokusu ve idrarda asetonuri gözlemlendi.  $CCl_4$  toksikasyonunda ise koyunlarda iştih kaybı, diş gıcırması, hareketsizlik, sendeleyerek yürüme ve daha sonra ikter bulguları tespit edildi.

Normal, açlık ketozisi ve  $CCl_4$  toksikasyonu oluşturulan her iki gruptaki koyunlarda BSP klirens değerlerinin lokalizasyonu ve dağılımını tanımlamak amacıyla ortalama değerleri ve standard sapmaları hesaplandı (Tablo 1-2).

Tablo 1. Grup I'de normal, açlık ketozisi ve  $CCl_4$  toksikasyonunda serum BSP değerlerinin ortalamaları ( $\bar{x}$ ) ve standart sapmaları ( $S\bar{x}$ ).

Medians and observed ranges of BSP values in normal, starvation ketosis and  $CCl_4$  toxication in group I.

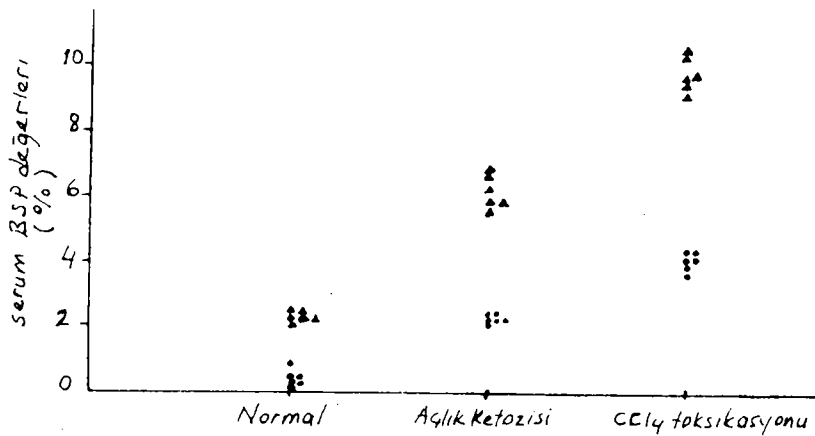
		Normal n:6	Açlık ketozisi n:6	$CCl_4$ toksikasyonu n:6
BSP	$\bar{x}$	0.470	2.130	4.033
serum değeri	$S\bar{x}$	0.109	0.125	0.075

Tablo 2. Grup II'de normal, açlık ketozisi ve  $CCl_4$  toksikasyonunda serum BSP değerlerinin ortalamaları ( $\bar{x}$ ) ve standart sapmaları ( $S\bar{x}$ ).

Medians and observed ranges of BSP values in normal, starvation ketosis and  $CCl_4$  toxication in group II.

		Normal n:6	Açlık ketozisi	$CCl_4$ toksikasyonu n:6
BSP	$\bar{x}$	2.328	6.593	9.827
serum değeri	$S\bar{x}$	0.059	0.229	0.173

Birinci gruptaki koyunlarda serum BSP değerleri açlık ketozisinde 2.130 ve  $CCl_4$  toksikasyonunda 4.033 olurken, ikinci gruptaki koyunlarda bu değerler açlık ketozisinde 6.593 ve  $CCl_4$  toksikasyonunda 9.827 olarak saptandı (Grafik 1). Her iki grup için açlık ketozisi ve  $CCl_4$  toksikasyonunda serum BSP değerlerindeki bu artışlar istatistik olarak önemli bulundu ( $p < 0.001$ ).



Grafik: 1 Grup I (.) ve Grup II (▲)'de serum BSP düzeyleri.  
The serum BSP levels in group I (.) and group II (▲).

### Tartışma ve Sonuç

BSP testinin koyunlarda kantitatif karaciğer fonksiyon testi olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından kabul edilmiş olup (4, 10, 11, 17), bu çalışma bulgularıyla da belirlenmiştir.

Cornelius ve ark (4), BSP testinin en büyük dezavantajının koyunlarda BSP'nin klirensinin hızlı olması nedeni ile kan örneklerinin oldukça çabuk alınmasını öne sürmelerine rağmen klinik tanıda önemli olan bu testin oldukça çabuk gerçekleşmesinin tanıya daha çabuk varılması açısından bir avantaj olduğu görülmüştür.

Anwer ve ark (1), karaciğer fonksiyon bozukluklarında, plazma asit miktarı tayininin zamana bağlı kan örneklerinin alınması nedeniyle BSP testinden daha çok pratik avantaja sahip olduğunu ileri sürmektedirler. Fakat plazma safra asitlerinin tespitinde kullanılan enzimatik metodun pratik olmaması rutin muayenede kolaylık sağlamamaktadır.

Koyunlarda BSP'nin dozu için Cornelius ve ark (4), ve Forbes ve Singleton (10), 5 mg/kg dozunu önerirlerken, Tucker ve ark (17), yeterli kan klirens değerlerinin oluşumu için 15 mg/kg dozunu önermektedirler. Her iki dozunda kullanıldığı bu çalışma sonucunda özellikle sağlıklı hayvanlarda normal değerler, 5 mg/kg doz için oldukça düşük saptandı. Küçük değerlerde standart sapmanın büyük oluşu sonuçların güvenilirliğini azaltığından 15 mg/kg dozun daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Cornelius ve ark (4), BSP klirensinin koyunlarda at ve sığırlardan çok daha hızlı olduğunu ve enjeksiyondan sonra üç ve yedinci dakikalar içinde BSP'nin plazmadan kaybolmaya başladığını bildirmektedirler. Bu çalışmada özellikle sağlıklı koyunlarda 10. dakikada elde edilen serum BSP değerleri bu sonucu doğrulamaktadır. Karaciğer fonksiyon bozukluklarında BSP retensiyonunun artması nedeniyle retensiyonun 10. dakikada ölçülmesi uygun olacaktır.

Forbes ve Singleton (10), açlıkta BSP klirensinin düştüğünü bildirirken Cornelius ve ark. (4), çevre ve rasyonları değiştirildikten yaklaşık 30 gün sonra klinik ketozis oluşan koyunlarda 15. dakikada BSP retensiyonunun % 5.7-64 arasında değiştiğini ve yalnız BSP retensiyonu % 5.7 ve 15 olan iki koyunun iyileştiğini, diğerlerinin öldüğünü bildirmektedirler. Bu çalışmada da 10 gün aç bırakılan koyun-

larda BSP retensiyonunda artış saptanmıştır (% 6.593). Bu artış lipid depolarının mobilizasyonu sonucu kan plazmasında artan serbest yağ asitlerinin karaciğerde esterleştirilip, plazma lipoproteinleri halinde kana verilmesi sırasında, karaciğer hücrelerinde metabolizmanın artması ve hücrelerde trigliserid miktarının fazlalaşmasına bağlı olarak karaciğer dolaşımının azalması sonucunda oluşmaktadır (8).

Tucker ve ark (17), dört koçta  $CCl_4$  ile toksikasyondan 24 saat sonra 15 mg/kg BSP dozu için BSP retensiyonunu % 12 olarak saptamışlardır. Bu çalışmada  $CCL_4$  ile toksikasyondan 48 saat sonra ölçülen BSP retensiyonun bu bulguları doğrulayıcı artışlar tespit edilmiştir. (% 9.827). Bu artışlara karaciğerde toksikasyon sonucu oluşan yağ dejenerasyonu ve sentral nekroz neden olmaktadır (3).

Sonuç olarak bu çalışmada, BSP klirens testinin koyunlarda karaciğer fonksiyonunun normal olup olmadığının rutin olarak değerlendirilmesi açısından önem taşıdığı ortaya konulmuştur. Testin diğer hayvan türlerinde uygulanmasının hastalıkların tanısı ve sağaltımlarında başarı oranını yükseltebileceği kanısına varılmıştır.

#### Kaynaklar

1. **Anwer, M.S., Engelkung, L.R., Gronwall, R. and Klentz, R.D.** (1976). *Plasma bile acid elevation following  $CCl_4$  induced liver damage in dog, sheep, calves and ponies.* Res. Vet. Sci., 20: 127-130.
2. **Blood, D.C., Radostist, O.M., Henderson, J.A.** (1983). *Veterinary Medicine.* 6th ed. Bailliere Tindall, London.
3. **Clark, L.M., Harvey, D.G., Humphreys, D.J.** (1981). *Veterinary Toxicology.* Second ed. Bailliere Tindall, London.
4. **Cornelius, C.E., Holm, L.W., Jasper, D.E.** (1958). *Bromsulphalein clearance in normal sheep and in pregnancy toxemia.* Cornell Vet., 48: 305.
5. **Cornelius, C.E., Wheat, J.D.** (1957). *Bromsulphalein clearance in the horse-A quantitative liver function test.* Amer. J. Vet. Res. 18: 369.
6. **Disque D.F., Cornelius, C.E., Gronwall, R.R.** (1967). *Sulfabromophthalein (BSP) excretion in immature sheep.* Cornell Vet., 58: 196.
7. **Ersoy, E., Bayşu, N.** (1981). *Pratik Biyokimya.* A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları: 372 Ankara.
8. **Ersoy, E., Bayşu, N.** (1986). *Biyokimya.* A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları: 408 Ankara.
9. **Flock, E.V., Bollman, J.S., Grindlay, J.H., Mc Kenzie, B.F.** (1951). *Metabolites of radioactive L-Thyroxine and L-Triiodothyroxine.* Endocrinol. 61: 461

10. **Forbes, T.J., Singleton, A.G.** (1966). *Bromsulphalein liver clearance in non-pregnant ewes*. Brit. Vet. J. 122: 55-64.
11. **Freese, U.** (1952). *Die leberfunktionsprobe mit Bromsulphalein beim rind*. Diss tierarztliche hochschule Hannover, Hannover, Germany.
12. **Jansen, R.J.** (1960). *Rumenitis-Liver abscess complex in feed-lot cattle*. The Calif. Vet. 13: 26.
13. **Kazım A., Ersen, G.** (1983). *Klinik Biyokimya*. Hacettepe Kitapçılık LTD. ŞTİ. Ankara.
14. **National Research Council.** (1975). *Nutrient requirement of sheep*. 5 th. Rev. Ed. National Academy of Science, Washington, D.C.
15. **Robertson, W.E., Bailey, W.W., Lennon, H.D., Mixner, J.P.** (1956). *Determination of liver function and plasma and blood volumes in cetotic cows by using bromsulphalein*. J. Dairy. Sci. 39: 935.
16. **Streeten, D.H.P.** (1959). *The hepatic metabolism of adrenocortical steroids and some clinical implications thereof*. Gastroenterology 37: 643.
17. **Tucker, R.E., Mitchell, G.E., Little, C.O.,** (1971). *The sulfobromophthalein (BSP) liver fonction test for sheep*. J. Anim. Sci. 32: 1190-1194.
18. **Wise, M.B., Harvey, R.W., Haskins, B.R., Barrick, E.R.** (1968). *Finishing beef cattle on all concantrate rations*. J. Anim. Sci. 27: 1449.