

KUZULARDA DENEYSEL OLUŞTURULAN SEREBROKORTİKAL NEKROZUN

PROFİLAKSİ ve TEDAVİSİNDE MAYANIN ETKİSİ*

Mahmut Ok¹ Kemal İrmak³ Mustafa Ortatlı² Veysi Aslan¹

Kemal Çiftçi² İsmail Şen¹ Fatih M. Birdane¹

The effect of yeast on the treatment and prevention of experimentally induced cerebrocortical necrosis in lambs

Summary: The effect of yeast on the treatment and prevention of the cerebrocortical necrosis (CCN) induced experimentally by amprolium in lambs was investigated in this study. Nine healthy lambs (aging between 6 and 8 months, and weighing between 14 and 16 kg) were used as a material. Nine lambs were divided into 3 groups. Each group had 3 animals. Amprolium (600 mg/kg/day) was given to induce CCN orally to all the groups during experiment by stomach tube. Yeast (2 g/kg/day) was given orally to the lambs of group I and 3 to treat and to prevent the CCN. The lambs of all the groups exhibited clinical findings related with CCN between 24 and 62 days of the experiment, except two lambs of the group I. Serum ALT and glucose concentrations increased ($p < 0.05$, $p < 0.01$), and plasma thiamine concentration decreased ($p < 0.05$, $p < 0.01$) in all of the lambs. Meningial hyperemia, swelling and oedematous brain were observed in all of the lambs, excluding lambs 1 and 3 in the necropsy. Histologically, ischemic neuronal changes, perivascular and perineuronal oedema and focal necrosis were determined in cerebellar cortex in all of the lambs, excluding lambs 1 and 3. The results of this study showed that using of yeast might have beneficial in the prevention of the CCN in lambs.

Key Words. Lamb, yeast, cerebrocortical necrose

Özet: Bu çalışmada, kuzularda deneysel olarak amprolium ile oluşturulan serebrokortikal nekrozun tedavi ve profilaksisinde mayanın etkisi araştırıldı. Materyal olarak 6-8 aylık, canlı ağırlıkları 14-16 kg arasında değişen 9 kuzu kullanıldı. Kuzular 3'erli 3 gruba ayrıldı. Bütün kuzulara deneme süresince 600 mg/kg/gün dozunda amprolium, sonda ile içirildi. Ayrıca I. gruptaki kuzulara profilaksi amacıyla deneme süresince, III. gruptakilere ise tedavi amacıyla günlük 2 gr/kg dozunda oral yolla maya verildi. Birinci gruptaki 2 kuzu (1 ve 3 nolu) hariç denemeye alınan bütün kuzularda, 24-62. günler arasında serebrokortikal nekroza ilişkin klinik belirtiler şekillendi. Bu kuzularda serum glikoz ve ALT konsantrasyonlarında önemli artış ($p < 0.05$, $p < 0.01$), plazma tiamin seviyesinde ise tedrici olarak önemli azalma ($p < 0.05$, $p < 0.01$) belirlendi. Klinik belirti gösteren kuzuların otopsisinde, makroskopik olarak meninkslerde hiperemi, beyin dokusunda şişkinlik ve ödem, mikroskopik olarak ise perivasküler ve perinöronal ödem, işemik nöronal değişiklikler ve serebral-kortekste fokal nekrotik odaklar tespit edildi. Sonuç olarak, mayanın kuzularda serebrokortikal nekrozun önlenmesinde etkili olduğu, fakat tedavi edici etkisinin pek olmadığı anlaşıldı.

Anahtar kelimeler. Kuzu, maya, serebrokortikal nekroz.

Giriş

Serebrokortikal nekroz, genellikle 4-24 aylık hayvanlarda tiamin yetersizliğine bağlı şekillenen depresyon, inkoordinasyon ve konvülziyonlar gibi klinik semptomlarla seyreden, merkezi sinir sis-

teminin bir hastalığıdır. Ruminantlarda tiamin yetersizliği, ya rumende tiamin sentezleyen mikrofloranın bozulması ya da tiamin kullanımının engellenmesi durumlarında meydana gelir. Özellikle tek mideli hayvanlar ile ruminal faaliyetleri henüz gelişmeyen ve bu yüzden yeterli düzeyde tiamin sentezleyemeyen kuzu, oğlak ve buzağılar, tiamin

Geliş Tarihi: 30.12.1997

* Bu araştırma SÜAF tarafından desteklenmiştir.

1. S.Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı, KONYA.

2. S.Ü. Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, KONYA.

3. K.Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı, KARS

noksanlığına daha duyarlıdır (Markson ve ark., 1974; Blood ve ark., 1983; Fakhrouddin ve ark., 1987; Tanwar, 1993).

Ruminantlarda serebrokortikal nekroza neden olan faktörlerin başında, hayvanların karbonhidratça zengin yemlerle beslenmesi, yüksek sülfat veya sülfür bileşiklerini içeren yem ve suların alınması ve tiamin antagonisti ilaçların uzun süreli veya yüksek dozda kullanılması sayılabilir. Tiamin antagonisti ilaçların en önemlisi amprolium'dur (Dunlop ve ark., 1981; Raisbeck, 1982; Goonerate ve ark., 1989; Rouseaux ve ark., 1991; Lonkor ve ark., 1992). Amprolium ile deneysel serebrokortikal nekrozu Fakhrouddin ve ark. (1987) keçilerde 33-48. günde, Lonkar ve ark. (1992) koyun ve sığırlarda 41-55. günde, Ok ve ark. (1995) kuzularda 29-63. günde oluşturmuşlardır. Itabisash ve ark. (1990) kuzu ve buzağılara amprolium uygulamışlar ve uygulamadan 31 gün sonra EEG dalgalarında değişiklikler oluştuğunu ve daha sonraki günlerde ise konvülsif hareketlerin şekillendiğini gözlemişlerdir. Bu hayvanların otopsilerinde fokal veya hafif derecede işemik değişikliklerin geliştiğini belirlemişlerdir.

Tiamin, karbonhidrat metabolizmasında önemli rol oynayan transketolaz'ın yapısına girer. Noksanlığında beyindeki glia hücrelerinin glikoz katabolizması bozulur ve bunun sonucunda beyin dokusunda ödem, nöronlarda nekroz gelişir (Kaneke, 1989).

Serebrokortikal nekrozlu hayvanlarda iştahsızlık, halsizlik, belirgin depresyon, sürekli ataksi, dış gıcırdatması, inkoordinasyon, ayakta durmada güçlük, opistotonus, kulaklarda dikleşme, ileri dönemlerde koma ve ölüm şekillenir (Fakhrouddin ve ark., 1987; Gould ve ark., 1991; Tanwar ve ark., 1993; Ok ve ark., 1995).

Ok ve ark. (1995), amprolium ile deneysel olarak serebrokortikal nekroz oluşturdukları kuzularda serum AST, ALT, CPK ve glikoz seviyelerinin arttığını, tiamin seviyesinin ise önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir.

Serebrokortikal nekrozlu kuzularda serebral

ve serebellar kortekste, kollikuluslarda, genikulate çekirdeklerde, nükleus kaudatusta, medulla oblongatada ve ponsta perivasküler ve perinöronal ödem, perivasküler kanamalar ve fokal nekrotik odaklar oluşur (Markson, 1966; Urman ve ark., 1979; Tanwar ve ark., 1983; Ok ve ark., 1995).

Mayanın (*Saccharomyces cerevisia*), içerdiği enzim ve liamin nedeniyle gastrointestinal sistem üzerine uyarıcı etki gösterdiği, özellikle rumen ekosistemi ve bakteriyel populasyon üzerine önemli etkisi olduğu ileri sürülmektedir (Broberg, 1960; Aslan, 1992). Böylece maya, aneorobik ve selülotik bakterilerin sayısında önemli oranda artışa neden olarak, selülozca zengin gıdaların sindirimini kolaylaştırmaktadır (Walli, 1994). Höltershinken ve ark. (1996) mayanın, akut ruminal asidoziste laktat üretimini inhibe ederek metabolik asidozisi engellediğini bildirmişlerdir. Oysa Aslan ve ark. (1995) keçilerde yaptıkları bir çalışmada, akut ruminal asidoziste mayanın etkisiz olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışma, amprolium ile kuzularda deneysel olarak oluşturulan serebrokortikal nekroz olgularında mayanın koruyucu ve tedavi edici etkisinin olup olmadığını araştırmak amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, 6-8 aylık, 14-16 kg canlı ağırlığında 9 kuzu kullanıldı. Bütün kuzular, rutin klinik muayeneleri ve antiparaziter ilaç tedavisi yapıldıktan sonra, 15 gün süreyle adaptasyon amacıyla hospitalize edildi. Kuzular deneme süresince saman ve arpa kırması ile beslendi. Kuzular 3'erli 3 gruba ayrıldı.

Birinci gruptaki kuzulara (1,2 ve 3 nolu) deneme süresince 600 mg/kg/gün dozunda amprolium solusyonu (Amprosol®, Topkim) ve 2 gr / kg/gün kuru maya (Pakmaya®, Pak Gıda) suda eritilerek sonda ile içirildi. Amprolium solusyonu sabah saat 9,00'da , kuru maya ise akşam saat 17.00'de içirildi.

İkinci gruptaki kuzulara (4, 5 ve 6 nolu) de-

neme süresince 600 mg/kg/gün dozunda amp-
rolium solusyonu oral verildi.

Üçüncü gruptaki kuzulara (7, 8 ve 9 nolu) de-
neme süresince 600 mg/kg/gün dozunda amp-
rolium solusyonu oral yolla iştirildi ve se-
rebrokortikal nekroza ilişkin belirtiler oluştuktan
sonra, amprolium uygulamasına son verilerek aynı
kuzulara tedavi amacıyla maya 2 gr/kg dozunda 3
gün süreyle oral verildi.

Deneme öncesi bütün kuzulardan bir kez, de-
neme süresince ise 2. haftadan itibaren 8 gün
arayla heparinli ve normal tüplere kan örnekleri
alınarak plazma ve serumları çıkartıldı. Plazma ör-
nekleri -20 °C' de derin dondurucuda saklandı.
Plazma tiamin hidroklorit (THCl) seviyesi Ol-
kowsky ve ark. (1991) tarafından tanımlanan me-
totla yüksek basınçlı likit kromatografi (HPLC) ile,
serum CPK, AST, ALT ve glikoz kon-
santrasyonları ise Gemstar otoanalizör cihazı ile
ölçüldü.

Analitik Metod:

Plazmadan tiamin hidroklorit konsantrasyonu
HPLC ile ölçüldü.

Kolon: Phenomenex, ultracarb 7 (ODS) 20,
250x4.6 mm, 7 mikron

Declektör: Waters 486-280 nm

Pompa (akış hızı): Perkin Elmer, binary, LC
Pump 250-2.0 ml /dk.

Entegratör: Hewlett Packard, 3392 A

CHTSPD: 0.1 cm/dk.

Mobil faz: 1.1gr heptansülfonik asit sodyum +
1.36 gr potasyum hidrojen fosfat 1lt saf suda çö-
zöldü. Bu çözeltiden 700 ml alarak 200 ml met-
honal ile karıştırıldı. H₃PO₄ ile konsantre edilerek
çözeltinin pH'sı:3.00µ 0.5'e ayarlandı. Vakum al-
tında çözölerek analizi yapıldı. 31.3 mg tiamin hid-
roklorit 250 ml saf su ile seyreltildi. Bu seyreltiden
2 ml alınarak 48 ml saf su ile tekrar seyreltildi ve
20 ml enjekte edildi.

Serebrokortikal nekroza ilişkin klinik be-
lirtilerin geliştiği kuzuların kesilerek sistemik otop-

sileri yapılırken, deneme süresince klinik belirti
göstermeyen kuzular ise denemenin bitiminden 1
hafta sonra kesilerek sistemik otopsileri yapıldı.
Serebrum, serebellum ve medulla spinalisin ser-
vikal kısmı derhal çıkarılıp kesitler yapılarak mak-
roskobik olarak incelendi. Daha sonra hemisferler,
serebellum, kollikuluslar, talamus, serebral kor-
teks, medulla oblongata, pons, nukleus kaudatus,
genukulate çekirdeklerden ve medulla spinalisin
servikal kısmından, ayrıca karaciğer ve bar-
saklardan parçalar alınarak % 10'luk tamponlu for-
malin solusyonunda tespit edildi. Alınan doku par-
çalarından parafin bloklar hazırlanarak (Luna,
1968), 5 µ kalınlığında kesitler alındı ve He-
matoksilen-Eosin (HE) ile boyandı. Bütün pre-
paratlar ışık mikroskobunda incelendi.

Gruplar arası istatistiksel farklılığın be-
lirlenmesinde student paired t-testinden ya-
rarlanıldı (Düzgüneş ve ark.,1983).

Bulgular

Klinik bulgular: Deneme süresince se-
rebrokortikal nekroza ilişkin klinik belirtiler II. ve III.
gruptaki kuzuların tamamında, I. gruptakilerin ise
sadece birinde (2 nolu kuzu) gözlemlendi. Birinci
gruptaki 2 nolu kuzuda denemenin 45. gününde,
II. gruptaki kuzularda denemenin 24. (Kuzu. 4) ve
54. günlerinde (kuzu. 5 ve 6), III. gruptaki ku-
zularda ise denemenin 57. (kuzu. 7), 59. (kuzu. 8)
ve 62.(kuzu. 9) günlerinden itibaren iştahsızlık,
durgunluk, diş gıcırdatması, çevreyle ilişkisini
kesme, bakar körlük, kulaklarda dikleşme, yan ta-
rafa yatarak sürekli ayakları hareket ettirme, klo-
nik-tonik spazm, ataksi, opistotonus ve ek-
softalmus gibi klinik belirtiler gözlemlendi (Şekil. 1).
Birinci gruptaki 2 kuzuda (kuzu. 1 ve 3) 65. güne
kadar herhangi bir merkezi sinir sistem bozukluğu
ile ilgili semptom görülmedi. Bu kuzuların iştahları
yerindeydi. 65. günden sonra bu kuzulara amp-
rolium ve maya uygulamasına son verildi ve bir
hafta süreyle takibe alındı. Bu süre içinde de her-
hangi bir klinik bulguya rastlanmadı. Se-
rebrokortikal nekroza ilişkin klinik bulgular ge-

liştikten sonra maya tedavisi uygulanan üçüncü gruptaki kuzularda tedaviye cevap alınmadı.

Laboratuvar bulguları: Birinci, ikinci ve üçüncü gruptaki kuzuların deneme süresince ölçülen serum AST, ALT, ALP, CPK, glikoz ve plazma tiamin konsantrasyonları Tablo1, 2 ve 3'de verilmiştir. Serum glikoz ve plazma tiamin konsantrasyonları ise Şekil 6 ve 7'de gösterilmiştir.

Birinci gruptaki kuzularda serum AST konsantrasyonunda denemenin 3., 5. ve 6. haftalarında ($p < 0.05$, $p < 0.01$), ALP konsantrasyonunda 7. haftasında ($p < 0.01$), CPK konsantrasyonunda 3. ve 7. haftalarında ($p < 0.05$), glikoz konsantrasyonunda 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$), plazma tiamin konsantrasyonunda 3., 4., 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$, $p < 0.01$) önemli farklılıklar belirlenirken, serum ALT konsantrasyonunda ise farklılık önemsizdi ($p > 0.05$).

İkinci gruptaki kuzularda serum ALP konsantrasyonunda denemenin 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$), glikoz konsantrasyonunda 3., 4., 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$, $p < 0.01$), plazma tiamin konsantrasyonunda 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$) önemli farklılıklar gözlenirken, serum AST, ALT ve CPK konsantrasyonlarında ise farklılık gözlenmedi ($p > 0.05$).

Üçüncü gruptaki kuzularda serum AST konsantrasyonunda denemenin 4. haftasında ($p < 0.05$), ALT konsantrasyonunda 5. haftasında ($p < 0.05$), ALP konsantrasyonunda 3., 4., 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$), glikoz konsantrasyonunda 4., 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$, $p < 0.01$), plazma tiamin konsantrasyonunda 3., 5., 6., 7. ve 8. haftalarında ($p < 0.05$) önemli farklılıklar belirlenirken, serum CPK konsantrasyonunda ise farklılık önemsizdi ($p > 0.05$).

Patolojik bulgular

a) Makroskobik bulgular. Birinci gruptaki 1 ve 3 nolu kuzularda beyin ve beyincikte her hangi bir makroskobik bulgu belirlenemezken, 2 nolu kuzuda meninksierde hiperemi, beyine yapılan ke-

sitlerde, korteksin kesit yüzünde yer yer sarımsı renkte odaklar, pons ve kollikulularda simetrik, mercimek büyüklüğünde soluk renkte ve hafif çökük alanlar dikkati çekti.

İkinci gruptaki kuzularda meninksler hiperemik, beyin dokusu şişkin ve ödemli olup giruslar yassılaştırmış durumdaydı. Beyinin kesit yüzünde kortekste, sulkusların giruslara geçiş bölgelerinde daha belirgin olmak üzere soluk sarımsı renkte alanlar tespit edildi. Ayrıca, 4 nolu kuzunun beyincik ve medulla oblongata bölgesindeki meninksierde ve submeningiyal bölgelerde peteşi ve ekimoz tarzında kanamalar dikkati çekti. Kesit yüzünde de meninkslerle birlikte kanamanın beyincik içerisine doğru devam ettiği ve 4. ventrikulusun da kanamalı olduğu gözlemlendi.

Üçüncü grup kuzularda meninkslerde hiperemi, beyin dokusunda şişkinlik ve ödem, kesit yüzlerinde ise kortekste, pek belirgin olmamakla birlikte soluk sarımsı renkli bölgeler dikkati çekti. 7 nolu kuzuda beyinin ön 1/3'lük bölümündeki meninksierde kanamalar görüldü.

Bütün gruplardaki kuzuların karaciğerleri hafif soluk renkli ve şişkin olup gevrek kıvamda idi. Ayrıca, barsaklarda hafif sulu bir içerik, mukozalarda hiperemi ve ödem dikkati çekti.

b) Mikroskobik bulgular. Birinci gruptaki her üç kuzuda da beyin ve beyincik kesitlerinde hiperemi, perivasküler ve perinöronal ödem ile nöronlarda yer yer hafif işemik değişiklikler dikkati çekti. İki nolu kuzuda bu bulgulara ilaveten ponsta ve serebral kortekste belirgin spongiyöz görünüm, perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları ve değişik genişlikte kanama alanları ile hafif gliosis gözlemlendi. Ayrıca, pons'un dorsal bölgelerinden alınan kesitlerde içerisinde yer yer gitter hücrelerinin de görüldüğü geniş erime ve nekroz alanları, bunların çevresinde ödem ve spongiyözis ile yer yer fokal veya daha geniş kanamalar vardı. Beyincikte pürkinje hücrelerinde yer yer sentral kromatolizis ve işemik değişiklikler, perivasküler ödem ile bu sahalarda granüler tabakadan ayrılmalar da görüldü.

İkinci gruptaki kuzularda beyin korteksinde sü-

perfisyal-orta veya derin laminalarda değişen şiddetlerde spongiyöz görünüm (Şekil 2), bazen de nekroz alanları vardı. Tüm kesitlerde diffuz veya bazen nodüler tarzda gliozis, hiperemi, damarlar çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonları, tek tük nötrofil lökositler, bazı bölgelerde perivasküler fokal veya daha geniş kanama alanları (Şekil 3), nöronlarda bazen sentral kromatolizis ve bazen de işemik değişiklikler, nöronofaji ve nöron çevresinde glia hücre infiltrasyonlarına bağlı satellitozis görüldü. Kortekse yakın bölgelerde substansiya albada yer yer ödem ve demiyelinasyon tespit edildi. Benzer değişikliklere, şiddeti değişen derecelerde olmak üzere kollikulularda, nukleus kaudatusta, pons ve medulla spinaliste de rastlandı. Kollikulus ve ponsun dorsal kısımlarındaki nekroz bölgeleri oldukça belirgindi (Şekil 4) ve preparatlarda da soluk renkte boyanmıştı. Ayrıca bir kesitte söz konusu nekrotik bölge içerisinde, sitoplazmaları vakuoler görünümde olan gitter hücreleri dikkati çekti (Şekil 5). Beyincikte hiperemi, perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu, bazen küçük kanama alanları, pürkinje hücrelerinde genellikle işemik değişiklikler, bu tabakada ödem ve granüler tabakadaki hücrelerde sayıca azalma ile substansiya albada yer yer demiyelinasyon gözlemlendi. Meninkslerde de hiperemi, hafif veya bazen oldukça şiddetli kanamalar tespit edildi.

Üçüncü gruptaki kuzularda hemisferlerin kortikal bölgelerinde genellikle süperlisyal tabakalarda hafif spongiyözis (perivasküler ve perinöronal ödem), nöronlarda işemik değişiklikler, diffuz veya bazen nodüler fokal gliozis gözlemlendi. Ayrıca korteks, pons ve nükleuslarda hiperemi, perivasküler hücre infiltrasyonu ile birlikte bir kuzuda (7 nolu kuzu) kollikulusun dorsalinde fokal nekroz alanı ve perivasküler kanamalar belirlendi. Beyincikte hafif ödem ve hiperemi dikkati çekti.

Bütün gruplardaki kuzuların karaciğerinde, hepatositlerde hidropik dejenerasyon ve yer yer yağlanma ile birlikte fokal nekroz alanları, bu bölgelerde mononükleer hücreler, bazen nötrofil lökositler, kupffer hücrelerinde proliferasyon göz-

lendi. Ayrıca portal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonları, safra kanalı epitellerinde parenkim dejenerasyonu ve yer yer deskuamasyon tespit edildi.

Denemeye alınan kuzuların hepsinin barsaklarında lamina epitelyaliste dejenerasyon ve deskuamasyon, propriyada ödem, nötrofil ve bazen eozinofil lökositler ile mononükleer hücre infiltrasyonları gözlemlendi.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma, tiamin noksanlığına bağlı gelişen serebrokortikal nekrozda mayanın koruyucu ve tedavi edici etkisinin olup olmadığını ortaya koymak amacıyla yapıldı. Çeşitli araştırmacılar (Fahkrouddin ve ark., 1987; Gould ve ark. 1991; Ok ve ark., 1995) tarafından bildirilen iştahsızlık, durgunluk, dış gıcırdatması, çevreyle ilişkiyi kesme, depresyon, ayakta durmakta güçlük, tutuk yürüyüş, yere yatarak sürekli ayakları hareket ettirme, klonik-tonik spazm, ataksi, opistotonus ve körlük gibi tiamin noksanlığına bağlı gelişen serebrokortikal nekroza ilişkin klinik belirtiler, 1. gruptaki 1 ve 3 nolu kuzular hariç, bu çalışmada da tüm kuzularda gözlemlendi.

Antikoksidan olarak kullanılan amprolium bileşiklerinin serebrokortikal nekroz oluşturma mekanizmasının, ya rumendeki tiamin sentezinin inhibisyonu yoluyla (Fahkrouddin ve ark., 1987) ya da yapısal olarak tiamine benzeyen amprolium bileşiklerinin hücre membranlarında tiamin ile yarışarak, tiaminin beyin hücrelerine girişini engellemesiyle (Tanwar ve ark.,1993) ilgili olduğu düşünülmektedir. Amprolium ile deneysel olarak serebrokortikal nekrozu Fahkrouddin ve ark.(1987) keçilerde 33-52 günde, Lonkar ve ark. (1992) koyunlarda 41-55 günde, Itabisash ve ark.(1990) kuzu ve buzağılarda 56-77 günde, Ok ve ark. (1995) ise kuzularda 29-63 günde oluşturmuşlardır. Sunulan bu çalışmada kuzularda deneysel serebrokortikal nekrozun 24-62 günde oluşması, sözü edilen araştırmacıların tespitleriyle

parellezlık göstermektedir.

Fahkrouddin ve ark.(1987) keçilerde amprolium³ ile deneysel oluşturulan serebrokortikal nekrozda plazma tiamin seviyesinin 3.85 µg/ml'den 0.51 µg/ml'ye kadar dştgn ve tedavi sonrası 3.52 µg/ml'ye yükseldiğini, Ok ve ark. (1995) ise kuzularda 4. haftadan itibaren tedrici olarak tiamin seviyesinin 4.42 µg/ml'den 0.62 µg/ml'ye kadar azaldığını ve tedavi sonrası 3.2 µg/ml'ye çıktığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise plazma tiamin seviyesi 3. haftadan itibaren tedrici olarak, I. gruptaki kuzularda 5.47 µg/ml'den 2.97 µg/ml'ye ($p < 0.05$, $p < 0.01$), II. gruptaki kuzularda 3.91 µg/ml'den 0.56 µg/ml'ye ($p < 0.05$, $p < 0.01$), III. gruptaki kuzutarda ise 5.27 µg/ml'den 0.44 µg/ml'ye kadar dştg tespit edildi ($p < 0.05$). Bu durum, amprolium'un kan tiamin seviyesinde önemli oranda düşüşe neden olduğunu ve serebrokortikal nekroz oluşumu ile kan tiamin seviyesinin sıkı sıkıya ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, sadece amprolium verilen II. ve III. grup kuzularda plazma tiamin seviyesinin aşırı derecede düşmesi, I. gruptakilerde ise düşüşün hafif olması, mayanın plazma tiamin seviyesini koruyucu veya yükseltici etkisinin olduğunu göstermektedir. Bu durum, koruyucu amaçla uygulanan mayanın fazla miktarda tiamin içermesinin (Broberg, 1960) yanında, tiamin sentezini yapan bakteri sayısını (Walli, 1994) arttırarak daha fazla tiamin sentezlenmesine yol açmasıyla ilgili olabilir.

Plazma tiamin seviyesindeki bulgulara paralel olarak, koruyucu amaçla maya verilen I. gruptaki kuzuların ikisinde (kuzu 1 ve 3) serebrokortikal nekrozla ilgili klinik bulguların oluşmadığı gözlendi. Bu kuzuların otopsi muayenesinde ve histopatolojik incelemelerde de serebrokortikal nekroza ilişkin belirgin patolojik bulguların olmaması, kısmen de olsa mayanın koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir. Serebrokortikal nekroza ilişkin klinik semptomlar oluştuktan sonra, tedavi amacıyla maya verilen III. grup kuzuların hiçbirinde ne klinik olarak bir iyileşme, ne de kan tiamin seviyesinde bir artış gözlenmedi. Bunun nedeni ise, serebrokortikal nekroza ilişkin bulgular

şekillendiğinde gastrointestinal sistemde stazis gelişmiş olmasından dolayı, mayada bulunan tiamin emiliminin yeterli düzeyde yapılamaması ile ilgili olabilir. Ayrıca santral sinir sisteminde oluşan nekrotik lezyonların onarılamaz olması ile de ilişkilidir. Bu gruptaki kuzuların histopatolojik muayenesinde serebrokortikal nekroza ilişkin bulguların tesbit edilmesi de mayanın tedavi edici etkisinin olmadığını doğrular niteliktedir.

Ok ve ark.(1995), amprolium ile deneysel olarak serebrokortikal nekroz oluşturdukları kuzularda, serum AST, ALT ve CPK enzim seviyelerinin önemli oranda arttığını belirlemişlerdir. Boody (1982) beyne ilişkin lezyonlarda hem CK1 izoenzim düzeyinde dołaysıyla CPK enzim düzeyinde, hem de AST enzim düzeylerinde artış şekillendiğini bildirmiştir. Sunulan bu araştırmada I. gruptaki kuzularda serum AST enzim düzeyinde denemenin 3., 5. ve 6. haftalarında önemli azalma ($p < 0.05$, $p < 0.01$), CPK enzim düzeyinde 3. ve 7. haftalarında ve ALP enzim konsantrasyonunda sadece 7. haftada önemli ($p < 0.05$, $p < 0.01$) artış belirlenirken, ALT enzim seviyesinde ise farklılık belirlenmedi. İkinci gruptaki kuzularda ALP enzim seviyesinde 5., 6., 7. ve 8. haftalarda önemli ($p < 0.05$) artış gözlenirken, AST, ALT ve CPK enzim konsantrasyonlarında farklılık gözlenmedi. Üçüncü gruptaki kuzularda ise AST enzim seviyesinde denemenin sadece 4.haftasında önemli azalma ($p < 0.05$), ALT enzim seviyesinde sadece 5. haftasında ($p < 0.05$) ve ALP enzim seviyesinde 3., 4., 5., 6., 7. ve 8. haftalarında önemli ($p < 0.05$) artış tespit edilirken, CPK enzim seviyesinde ise istatistiksel yönden herhangi bir farklılık tespit edilmedi. Bütün gruptaki kuzularda ALP enzim seviyesinin önemli oranda artması, amprolium'un uzun süreli ve yüksek dozlarda kullanımına ilişkin karaciğer ve safra yollarında veya sindirim sisteminde hasara yol aması ile ilgili olabilir. Histopatolojik muayenede, bütün kuzuların karaciğerinde, hepatositlerde ve safra kanalı epitel hücrelerinde dejenerasyonlar ile barsakların lamina epitelyalisinde dejenerasyon ve deskuamasyonların belirlenmesi, bu durumu doğrulamaktadır. Zaten uygulanan amprolium, tedavi

dozunun çok üstündedir. Bu nedenle söz konusu organlarda bu tür değişikliklere neden olabilir. CPK enzim düzeyindeki artış da, sinir sistemi veya kas hasarlarına bağlı olabilmektedir (Boody, 1982; Turgut, 1995).

Tiamin, karbonhidrat metabolizmasında önemli rol oynayan transketolaz'ın yapısına girer ve noksanlığında beyindeki glia hücrelerinin glikoz katabolizması bozulur. Bu hücrelerdeki değişiklikler nöronların beslenmesini bozar ve böylece nöronlarda nekrozlar gelişir. Sinir sistemi hastalıklarında hiperglisemi, ya sinir sisteminin glikozu kullanamaması sonucu glikozun kanda birikmesi ya da strese bağlı endojen kortizol salınımı sonucu kana aşırı glikoz verilmesiyle ilgilidir (Kaneko, 1989). Ok ve ark.(1995) amprolium ile deneysel olarak serebrokortikal nekroz oluşturdukları kuzularda glikoz seviyesinin önemli oranda arttığını bildirmişlerdir. Bu araştırmada bütün gruplardaki kuzularda tedrici olarak 4. haftadan itibaren serum glikoz konsantrasyonunun önemli oranda arttığı belirlendi. Tespit edilen veriler, Ok ve ark. (1995)'nin verileri ile benzerlik göstermektedir. Glikoz konsantrasyonundaki bu denli artış, hem oluşan serebrokortikal nekroza bağlı olarak beyinin yeteri derecede glikozu kullanamaması nedeniyle kanda birikmesi ve hem de strese bağlı endojen kortizol salınımı sonucunda kana fazla miktarda glikoz verilmesine bağlanabilir (Kaneko, 1989).

Serebrokortikal nekrozda beyindeki makroskobik lezyonlar hayvanın yaşına, bireysel farklılıklara ve olayın süresine bağlı olarak, hafif serebral ödem ve şişkinlikten, şiddetli ödem, sertleşme, girusların düzleşmesi, meningeal ve beyin-beyincik dokusu içerisinde kanamalar ile çeşitli büyüklükteki nekroz ve erime alanlarına kadar değişen derecelerde olabilmektedir (Sullivan, 1985; Olkowsky ve ark, 1992; Tanwar ve ark, 1993). Tabii olaylarda hastalığın süresi uzadıkça lezyonun şiddetinin arttığı (Sullivan, 1985; Hamlen ve ark, 1993), deneysel çalışmalarda ise genç hayvanlarda genellikle ölümün erken dönemlerde şekillenmesi veya klinik belirtilerin henüz baş-

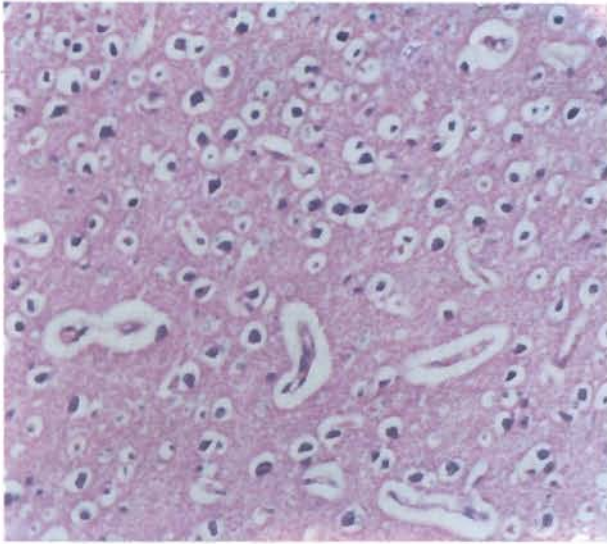
langıcında hayvanların kesimi sonucu tipik lezyonların daha ortaya çıkmadığı (Ok ve ark, 1995; Tanwar ve ark, 1993) bildirilmektedir. Çalışmada da söz konusu bulgular değişik derecelerde olmak üzere bütün kuzularda gözlenmiş fakat hiç birinde makroskobik olarak belirgin kortikal nekroz ve erime alanları gözlenememiştir. Klinik semptomların şekillenmesine rağmen makroskobik olarak şiddetli lezyonların bulunmayışında, Ok ve ark. (1995)'nin da bildirdiği gibi hayvanların yaşı, deneme süresi ve klinik belirtilerin henüz başlangıcında kesilmiş olmaları etkili olabilir.

Lezyonların gruplar arasındaki farklılığı mikroskobik bulgularda daha belirgindi. En şiddetli lezyonlara ikinci gruptaki kuzularda rastlanırken, üçüncü ve birinci gruplardaki kuzularda lezyonlar tedricen hafiflemekteydi. Özellikle birinci grupta sadece 2 nolu kuzuda belirgin lezyonlar vardı ve diğer iki kuzuda hafif perivasküler-perinöronal ödem, nöronal dejenerasyon ve gliosis dışında önemli bir mikroskobik bulguya rastlanmadı. Söz konusu 2 nolu kuzudaki lezyonların şiddetli olmasının nedeni anlaşılamamış, yalnız sindirim kanalından emilim oranlarındaki bireysel farklılıklara ilgili olabileceği düşünülmüştür. Çünkü bu kuzunun plazma tiaminin seviyesi aynı gruptaki diğer iki kuzunun plazma tiamin seviyesinden oldukça düşüktü. Ayrıca bazı deneysel çalışmalarda da (Read ve Harrington, 1986; Fakhruddin ve ark 1987; Rousseaux ve ark, 1991; Tanwar ve ark, 1993) aynı grup içerisindeki hayvanlarda lezyonların şiddeti bakımından farklılıkların olabildiği kaydedilmiştir.

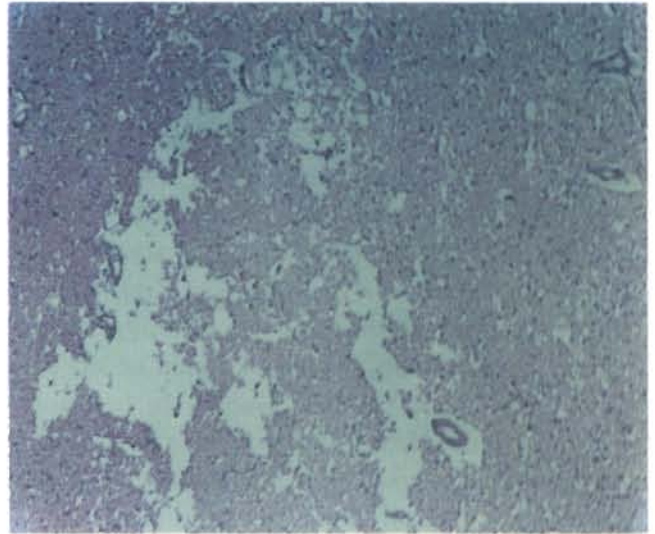
İkinci gruptaki kuzuların hepsinde, farklı derecelerde de olsa literatürlerde (Sullivan, 1985; Read ve Harrington, 1986; Hamlen ve ark, 1993; Ok ve ark, 1995) bildirilen serebrokortikal nekroz lezyonlarının geliştiği görülmüştür. Read ve Harrington (1986), astrositlerdeki intraselüler ödem nedeniyle, nöronların yeterince beslenemediğini ve işemik değişikliklere uğradığını bildirmektedir. Ayrıca diğer araştırmacılar da (Jackman ve ark, 1983; Rousseaux ve ark, 1991; Tanwar ve ark, 1993) yine bunun bir sonucu olarak beyinde ödem, spongioz görünüm ve nekrozlar şekillendiğini kaydetmişlerdir. Bu çalışmada göz-



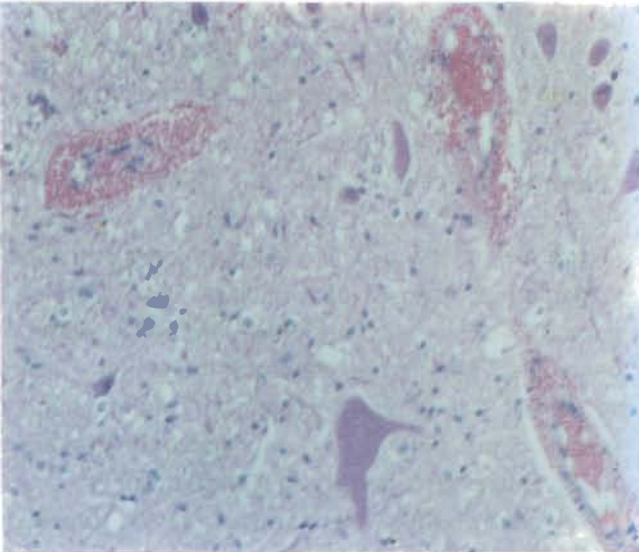
Şekil 1. Serebrokortikal nekrozlu bir kuzuda tortikollis ve klonik spazm.



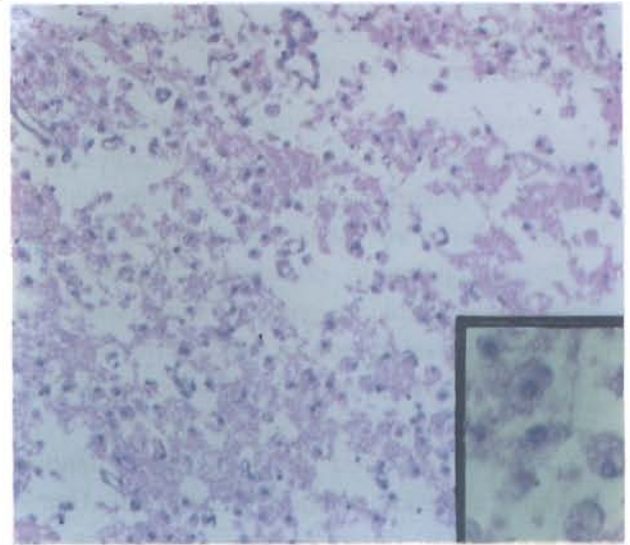
Şekil 2. Serebrokortikal nekrozlu bir kuzuda serebral kortekste şiddetli perivasküler-perinöronal ödem (spongiyozis). H.E.x 165.



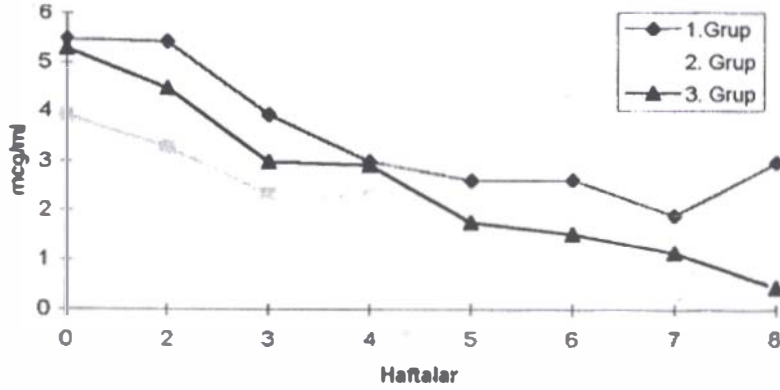
Şekil 4. Serebrokortikal nekrozlu bir kuzuda kortekste nekroz ve erime odağı. H.E x 50.



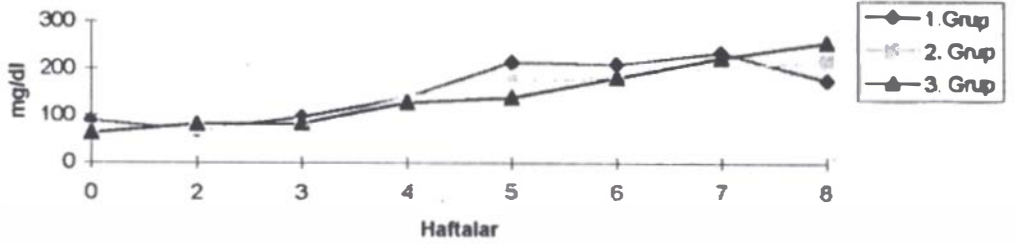
Şekil 3. Serebrokortikal nekrozlu bir kuzuda kolikuluslarda perivasküler kanamalar. H.E.x 130.



Şekil 5. Serebrokortikal nekrozlu bir kuzuda ponda nekroz ve erimeler ile buradaki gitter hücreleri. H.E.x 115, İnset:Gitter hücrelerinin yakından görünümü. x 250.



Şekil 6. 1., 2. ve 3. Gruplardaki Kuzuların Plazma Tiemin HCl Konsantrasyonları



Şekil 7. 1., 2. ve 3. Gruplardaki Kuzuların Serum Glikoz Konsantrasyonları

lenen perivasküler-perinöronal ödem, fokal kanamalar ve nöronlardaki işemik değişiklikler gibi beyindeki dolaşım bozukluğuna ilişkin benzer bulgular da araştırmacıları doğrular niteliktedir.

Üçüncü gruptaki her üç kuzuda da, II. gruba nazaran biraz daha hafif şiddette olmakla beraber, makroskobik ve mikroskobik bulgular devam etmekteydi. Söz konusu bulgular amprolium ile yapılan çalışmalarda (Fakhrudin ve ark, 1987; Tanwar ve ark, 1993; Ok ve ark, 1995) bildirilen patolojik bulgularla benzerlik göstermekteydi. Bu gruptaki kuzularda ayrıca klinik ve klinik-patolojik bulguların da mevcut olması, mayanın hastalık geliştikten sonraki dönemde tedavi edici etkisinin yeterince olmadığını göstermektedir. Oysa hastalık

semptomları şekillenmeden ve sindirim bozukluğu meydana gelmeden yapılan peros maya uygulamasının, patolojik bulgulara bakılarak nispeten de olsa koruyucu etkisinin olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, amprolium'un uzun süre ve yüksek dozda kullanıldığında serebrokortikal nekroza yol açtığı bir kez daha ortaya kondu. Mayanın, plazma tiamin seviyesinin aşırı derecede düşmesini önleyerek, serebrokortikal nekroz oluşumunda koruyucu bir etki sağladığı, fakat beyinde serebrokortikal nekroza ilişkin lezyonlar şekillendikten sonra tedavi edici etkisinin olmadığı kanısına varılmıştır.

Tablo 1 Kuzularda (1. Grup) AST, ALT, ALP, CPK, Glikoz ve Tiamin HCl konsantrasyonlarının ortalamaları ve farkları.

n:3	0 değer	2. hafta	3. hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta
AST(U/L)	75.33±2.91	82±6.11	31±3.06 **	37.67±22.93	33.33±3.18**	40±4.51*	46±5.13	46.5±7.5
ALT(U/L)	47.33±15.51	36±4.73	37.33±3.18	33.33±3.76	42±4.93	37±2.19	48.33±0.88	47±5
ALP(U/L)	205.67±86.82	158±23.8	187±6.08	170±15	232.076±44.46	231.37±24.84	231±22.61**	200.5±10.5
CPK(U/L)	20.33±5.90	41±15.53	35.33±5.49 *	45.33±10.48	32.33±6.74	85±12.5	60.67±11.78*	44±26
GLİ(mg/dl)	88 ±27.30	68±1.53	96.33±13.96	139.67±12.2	213±52.12*	208±42.62*	231.37±56.89*	174.5±14.5*
T.HCl(µg/ml)	5.47±1.05	5.42±1.16	3.92±0.97 **	2.98±0.78*	2.60±0.57*	2.61±1.1**	1.89±0.86**	2.97±0.04*

GLİ:Glikoz, T.HCl:Tiamin hidroklorit n: hayvan sayısı **: p<0.01 : Deneme öncesi değerlerle olan farkları ifade etmektedir.

*p<0.05

**p<0.01

Tablo 2 Kuzularda (2. Grup) AST, ALT, ALP, CPK, Glikoz ve Tiamin HCl konsantrasyonlarının ortalamaları ve farkları.

n:3	0 değer	2. hafta	3. hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta
AST(U/L)	63.67±8.84	82±2	54.33±6.17	62±7.64	53.5±6.5	67.5±17.5*	86±5	90±14
ALT(U/L)	29.67±1.67	34.33±0.88	32.67±1.33	49.5±11.5	50.5±3.5	45±3	45±3	48±3.52
ALP(U/L)	74±8.66	115.67±21.26	98.67±20.61	130.67±43.67	156±12*	170.5±10.5	171.5±12.5*	188.5±11.5
CPK(U/L)	24.67±8.45	31.67±8.25	43.67±4.26	53±0.79	82.5±6.50	89±5	94±6	123±11*
GLİ(mg/dl)	66.67±6.06	72±14.19	79.67±8.37*	139.33±28.49*	169.5±25.5*	180.5±20.5*	202±43*	213±36**
T.HCl(µg/ml)	3.91±0.5	3.26±0.65	2.3±0.75	2.27±1.06	1.41±0.63*	1.29±0.31*	0.82±0.01*	0.56±0.12*

GLİ:Glikoz, T.HCl:Tiamin hidroklorit n: hayvan sayısı **: p<0.01 : Deneme öncesi değerlerle olan farkları ifade etmektedir.

*p<0.05

**p<0.01

Tablo 3 Kuzularda (3. Grubu) AST, ALT, ALP, CPK, Glikoz ve Tiamin HCl konsantrasyonlarının ortalamaları ve farkları.

n:3	0 değer	2. hafta	3. hafta	4. hafta	5. hafta	6. hafta	7. hafta	8. hafta
AST(U/L)	75.67±9.27	81.87±14.26	48.67±1.2	47.33±9.21*	52.67±3.71	58±3.79	59±8.89	70.33±6.74
ALT(U/L)	34±2.08	33.33±3.3	38.67±0.67	40.33±1.33	50.67±1.76*	49.33±3.93	48.67±1.67	49±4.36
ALP(U/L)	0.67±17.52	110±11.36	202.33±7.67*	193.67±27.34*	202.67±18.12*	198.33±19.06*	167.33±7.36*	181.67±4.18*
CPK(U/L)	15.67±9.94	21.67±6.84	26±146.4	23.67±10.68	32±13.11	27.67±11.72	30±11.02	40.67±12.99
GLİ(mg/dl)	61.6±3.71	81.67±1.33*	83.67±5.70*	127.67±4.67*	137.67±5.61**	179±36.02*	220.67±37*	252.67±23.84**
T.HCl(µg/ml)	5.27±1.34	4.46±0.32	2.97±0.17*	2.91±0.62	1.74±0.43*	1.54±0.36*	1.14±0.19*	0.44±0.15*

GLİ:Glikoz, T.HCl:Tiamin hidroklorit n: hayvan sayısı **: p<0.01 Deneme öncesi değerlerle olan farkları ifade etmektedir.

*p<0.05

**p<0.01

Kaynaklar

Aslan, V., Thamsborg, S.M., Jorgensen, R.J., Basse, A. (1995). Induced acute ruminal acidosis in goats treated with yeast (*Saccharomyces cerevisia*) and bicarbonate. *Acta. Vet. Scand.* 36, 65-77.

Aslan, V. (1992). Hayvanlarda biyoterapötik amaçla ekmek mayasının (*S. Cerevisia*) kullanımı. *Türk Vet. Hek. Derg.*, 4, 1,23-25.

Blood, D. C., Handerson, J. A., Radotitis, O. M. (1983). "Veterinary Medicine". 3th Edition, Philadelphia.

Boody, J.W. (1982). The mechanism relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in disease animals. *Vet. Clin. Path.* XII, II, 9-24.

Broberg, G. (1960). Acute overeating with cereals in ruminants. Thesis, AB Lovisa, Finland.

Dunlop, R. H., Bueno, L., Ruckbusch, Y. (1981). Slow wave spindle bursts in ovine polioencephalomalacia, proceeding of the IV th international conference on production diseases in farm animal. October, S, 16-19, München, Germany.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F. (1983). "İstatistik Metodları", 1 A.Ü. Zir.Fak. Yayınları, Ankara.

Fakhrouddin, A., Mathur, P.D., Sharma, S.N., Yadav, J.S. (1987). Experimental studies on polioencephalomalacia (cerebrocortical necrose) in goats by amprolium. *Ind. J. Anim. Sci.*, 57, 5, 377-382.

Gooneratne, S. R., Olkowsky, A. A., Christenson, M. (1989). Sulphur induced polioencephalomalacia in sheep: some biochemical changes. *Can. Vet. J. Res.*, 53, 462-467.

Gould, McAllister, M.M., Savage, J.C., Hamar, D.M. (1991). High sulfide concentration in rumen fluid associated with nutritionally induced polioencephalomalacia. *Am. J. Vet. Res.* 52, 7, 1164-1169.

Hamlen, H., Clark, E and Jansen, E. (1993). Polioencephalomalacia in cattle consuming water with elevated sodium sulphate levels: A herd investigation. *Can. Vet. J.*, 34, 153-158.

Höltershinken, M., Pereira, D., Figueride, M., Feldman, M., Scholz, H. (1994). Investigation for using different yeast against acidotic conditions in rumen fluid (in vitro). XVIII World Buiatrics Congress, August 29-September 2, Bologna, Italy.

- Itabisash, T., Horino, R., Hirano, K. and Meade, M. (1990). Electroencephalo-graphic observation on sheep and cattle with experimental cerebrocortical necrose. *Jpn. J. Sci.* 52, 3, 551-558.
- Jackman, R., Edwin, E.E. (1983). Cerebral autofluorescens and thiamine deficiency in cerebrocortical necrosis. *Vet. Res.*, 4, 548-550.
- Kaneko, J. J. (1989). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th. edition, London.
- Lonkor, R. S., Prasade, M. C. (1992). Induction of cerebrocortical necrosis in goats. *Ind. Vet. Res. Inst.* 62, 6, 551-552.
- Luna, L.G. (1968). *Manual of histological staining method of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3th. Ed. McGraw Hill-book Company, Newyork.
- Markson, L. M., Terlecki, S., Lewis, G. (1966). Cerebrocortical necrosis in calves. *Vet. Res.*, 79, 578-579.
- Markson, L. M., Edwin, E. E., Lewis, G., Richard, C. (1974). The production of cerebrocortical necrosis in calves by the intraruminal administration of amprolium. *Br. Vet. J.* 130, 9-15.
- Ok, M., Aslan, V., Çiftçi, K., Maden, M., Sevinç, M., Yener, Z. (1995). Kuzularda deneysel olarak oluşturulan serebrokortikal nekrozda klinik, laboratuvar ve patolojik bulgular. *Bil. Vet. Derg.*, 11, 1: 5-11.
- Olkowsky, A. A., Goonerata, S.R. (1991). Microbiological method of thiamine measurement in biological material. *Internal Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 61 press.
- Olkowsky, A. A., Goonerata, S.R., Rouseaux, C.G., Cristenson, D.A. (1992). Role of thiamine status in sulphur induced poliocephalomalacia in sheep. *Res. Vet. Sci.* 52, 78-85.
- Raisbeck, M. F. (1982). Is poliocephalomalacia associated with high sulphur diets ?. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 180, 1303-1305.
- Read, D.H., Harrington, D.D. (1986). Experimentally induced thiamine deficiency in beagle dogs. *Pathological changes of central nervous system*. *Am. J. Vet. Res.* 47, 10, 2281-2289.
- Rouseaux, C. M., Olkowsky, A. A., Chauvet, A., Gooneratne, S. R., Cristenson, D. A. (1991). Ovine polioencephalomalacia associated with dietary sulphur intake. *J. Vet. Med.*, 38, 229-239.
- Sullivan, N.D. (1985). The nervous systems. In *"Pathology of Domestic Animals"*, Academic press. London.
- Tanwar, R. K., Malik, K.S. and Sadana, J.R. (1993). Polioencephalomalacia induced with amprolium in *Buffola* cattle: Pathologic changes of the central nervous system. *J. Vet. Med.* 40, 58-66.
- Turgut, K. (1995). *Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Özel Baskı, İstanbul.*
- Urman, H.K., Berkin, Ş., Milli, Ü., Güvençer., Alçıgır, G. (1979). Koyun ve keçi de cerebrocortical necrose (polioencephalomalacie). *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* 26, 59-80.
- Walli, T.K. (1994). Role of yeast culture in rumen ecosystem and animal performance. *Int. J. Anim. Sci.* 9, 117-121.