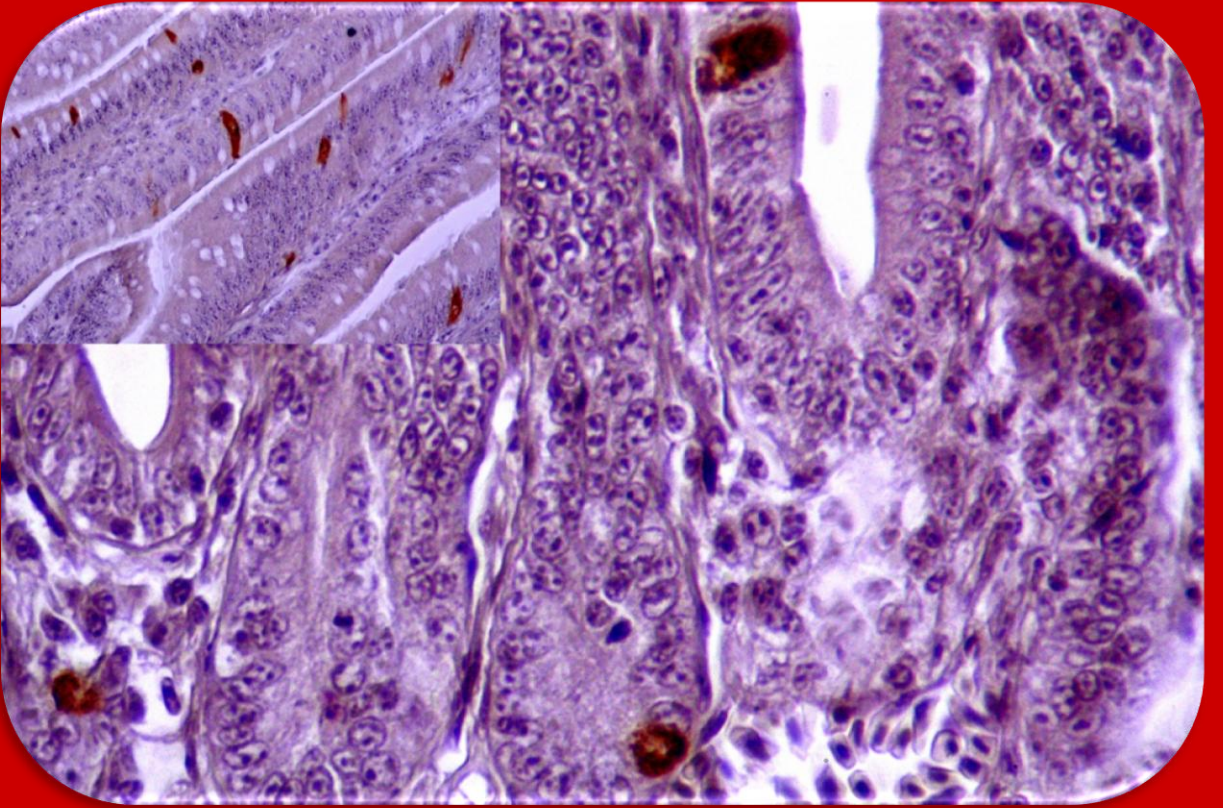


ISSN: 1306-6137



Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi

Atatürk University Journal of Veterinary Sciences



Bırdırcınların gastrointestinal sisteminde gastrin ve serotonin immunopozitif hücreler, Şimşek ve ark.,

Yıl/Year: 2011

Cilt/Volume: 6

Sayı/Number: 3



ISSN 1306 – 6137

*Atatürk Üniversitesi
Veteriner Bilimleri Dergisi*

*Atatürk University
Journal of Veterinary Sciences*

**Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına
Sahibi / Owner**

Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
Dekan / Dean

Editör / Editor-in-Chief

Doç. Dr. Nejdet ŞİMŞEK

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Doç. Dr. Ali KARADENİZ
Yrd. Doç. Dr. Emre KARAKUŞ
Yrd. Doç. Dr. Ertan ORUÇ

İngilizce Danışmanı / English Adviser

Doç. Dr. Ömer UÇAR

Dizgi / Typesetter

Yrd. Doç. Dr. İsmail CAN

Web Tasarım / Web Designer

Arş. Gör. Adem KARA

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., ulusal hakemli bir dergi olup **Nisan, Ekim ve Aralık** aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Bu dergi, **CAB Abstract, TÜBİTAK-ULAKBİM, CABI full text, Google Scholar** ve **Türkiye Atıf Dizini** tarafından taranmaktadır.

Atatürk University J. Vet. Sci., is a refereed national journal, is published tri-annually in April, October and December. This journal is abstracted in CAB Abstract, TÜBİTAK-ULAKBİM, CABI full text, Google Scholar and Türkiye Citation Index.

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
25240, Kampüs/Erzurum-TÜRKİYE
Tel : +90 442 2360880, Fax: +90 442 2360881
E-posta: atavetderg@hotmail.com; vetdergisi@atauni.edu.tr

Yıl / Year: 2011

Cilt / Volume: 6

Sayı / Number: 3

- **Şükrü Hakan ATALGIN, İbrahim KÜRTÜL, Sevinç ATEŞ.** Morphological Observation of the Rostral Epidural Rete Mirabile (*Rete Mirabile Epidurale Rostrale*) in the Saanen Goat (*Saanen Tekesinde Rete Mirabile Epidurale Rostrale'nin Morfolojik Görünümü*). 177-181
- **Nejdet ŞİMŞEK, Ali KARADENİZ, Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Adem KARA, İsmail CAN.** Yetişkin Bildircinların Gastrointestinal Sisteminde Gastrin, Somatostatin ve Serotonin Salgılayan Hücreler Üzerine İmmunohistokimyasal Bir Araştırma (*An Immunohistochemical Study on the Gastrin-, Somatostatin- and Serotonin-Releasing Cells in the Gastrointestinal System of Adult Quails*). 183-193
- **Ebru ÇETİN, Nazmi ÇETİN.** Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Oksidatif Beyin ve Böbrek Hasarına Karşı Ghrelinin Koruyucu Etkisi (*Protective Effect of Ghrelin against the Oxidative Brain and Kidney Injuries Induced by Carbon Tetrachloride in Rats*). 195-200
- **Ahmet TOPAL, Fikret ÇELEBİ.** Hiperisin'in İzole Edilmiş Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi (*Effects of Hypericin on Gastric Acid Secretion in Isolated Rat Stomach*). 201-208
- **Muammer TİLKİ, Birol GÜL, Mehmet SARI, Kadir ÖNK, Serpil IŞIK.** Yetiştirici Koşullarındaki Yerli Türk Kazlarının Büyüme, Kesim ve Karkas Özellikleri (*Growth, Slaughter and Carcass Traits of Native Turkish Geese Reared under the Countryside Conditions*). 209-215
- **Zeynep PEKCAN, Miyase ÇINAR, Mehmet GÜRKAN, Ali KUMANDAŞ.** Ankara Keçilerinde Propofol ve İzofluran Anestezisinin Oksidatif Stres Üzerine Etkileri (*The Effects of Propofol and Isoflurane Anaesthesia on Oxidative Stress in Angora Goats*). 217-222
- **Mukadder SUNAR, Zekeriya ÖZÜDOĞRU.** Işık Stresi Uygulanan Bildircinların (*Coturnix coturnix japonica*) İnce Barsaklarında Gözlenen Mikroskopik Değişikliklerin İncelenmesi (*The Evaluation of Microscopic Changes in the Small Intestines of Quails (Coturnix coturnix japonica) Exposed the Light Stress*). 223-229
- **Nazan KESKİN, Pınar İLİ.** Denizli Horozu Genital Sistemi Üzerinde Histokimyasal Araştırmalar (*Histochemical Investigations on the Reproductive System in Denizli Cock*). 231-237

Olgu Sunumu / Case Report

- **Yavuz Selim SAĞLAM, Kübra Asena TERİM KAPAKİN, İbrahim BALKAYA.** Bir Ceylanda (*Gazelle gazelle*) Hidatid Kist Olgusu (*Hydatid Cysts in a Gazelle (Gazelle gazelle): A case report*). 239-243

Derlemeler / Reviews

- **Murat KARA, Mükremin Özkan ARSLAN.** Kuzeydoğu Anadolu'da Hayvanlarda ve İnsanlarda Myiasis (*Myiasis in Animals and Humans in Northeastern Anatoli*) 245-250
- **Ahmet GÜNER, Nihat TELLİ.** *Cronobacter sakazakii*'nin Gıda Mikrobiyolojisindeki Önemi (*The Importance of Cronobacter sakazakii in Food Microbiology*). 251-263

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2011; 6(3)

Bu Sayının Hakem ve Danışman Listesi / List of Referees and Advisors for This Issue

- Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Ertuğrul ELMA, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Hakan YALÇIN, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Levent ERGÜN, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Ahmet YILDIZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Ali KARADENİZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Aysun ÇEVİK DEMİRKAN, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Barış SARI, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Ekrem LAÇIN, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Feyyaz ÖNDER, Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
- Doç. Dr. Meryem EREN, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Meryem KARAN, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Murat KANBUR, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Musa Özgür ÖZYİĞİT, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Turan KARACA, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi
- Doç. Dr. Ziya Gökalp CEYLAN, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Ayşe HALIGÜR, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Ertan ORUÇ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Fatih KANDEMİR, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Hamza AVCIOĞLU, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Naim Deniz AYAZ, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Yıldırım KALKAN, Rize Üniversitesi, Tıp Fakültesi

* Hakem listesi isim ve akademik ünvana göre alfabetik olarak sıralanmıştır.



Morphological Observation of the Rostral Epidural Rete Mirabile (*Rete Mirabile Epidurale Rostrale*) in the Saanen Goat

Şükrü Hakan ATALGIN¹, İbrahim KÜRTÜL², Sevinç ATEŞ²✉

1. Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Balıkesir University, Balıkesir.
2. Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Mustafa Kemal University, Hatay.

Abstract: The rostral epidural rete mirabile in small ruminants is bilaterally located next to the hypophysis in the cranial cavity, lies in the cavernous sinus, and regulates arterial blood flow of the brain. In this study, structural peculiarity of the rostral epidural rete mirabile in the ten male mature Saanen goats (11 months old, approximately 42 kg in weight, with a known pedigree, and obtained from Bolu region) was examined by corrosion cast technique using Takilon. Dissections have demonstrated that general architecture of the rostral epidural rete mirabile in the Saanen goat agrees with that in other small ruminants. It is structured by the branches from the arteria maxillaris only. The triangular shaped right and left components (the right and left parts) anastomose, forming a rostrally V-shaped structure. This anastomose was not observed in one of the materials. Thus, gross views and diameters of the retial arteries were not markedly different on the left and right sides. The maxillary artery, the rostral and caudal rami, and the rostral epidural rete mirabile were visualized by the corrosion cast technique. The caudal epidural rete mirabile and the chiasmatic rete were observed to lack in the Saanen goat.

Key words: *Rostral Epidural Rete Mirabile*, Saanen Goat.

Saanen Tekesinde *Rete Mirabile Epidurale Rostrale*'nin Morfolojik Görünümü

Özet: Rete mirabile epidurale rostrale küçük ruminantlarda cavum cranii içinde, hipofiz bezinin her iki yanında, sinus cavernosus içinde yer alan ve beynin arteriel kan akışını düzenleyen bir yapıdır. Bu çalışmada, Takilon ile korozyon kast tekniği kullanılarak, Bolu bölgesinden temin edilmiş 10 adet Saanen tekesinde (11 aylık, yaklaşık 42 kg ağırlığında ve seçereli) rete mirabile epidurale rostrale'nin yapısal özellikleri gözlemlenmiştir. Yapılan diseksiyonda bu anatomik yapının, genel özellikleri itibarıyla diğer küçük ruminant türlerinde gözlemlenen yapı ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu atardamar ağının sadece arteria maxillaris'ten köken alan dallar tarafından oluşturulduğu ortaya konmuştur. Sağ ve sol tarafta yer alan ve üçgen görümlü olan ağ bölümlerinin (pars dextra ve pars sinistra) ağzlaşarak ön tarafta "V" şeklinde bir yapı oluşturduğu gözlemlenmiştir. Fakat bu ağzlaşma bir bireyde görülmemiştir. Ayrıca, atardamar ağının sağ ve sol yarımının makroskopik görünümleri arasında bir farklılık bulunmamıştır. Arteria maxillaris, ramus caudalis ad rete mirabile epidurale rostrale, rami rostrales ad rete mirabile epidurale rostrale adlı dallar korozyon kast tekniği ile net bir şekilde ortaya çıkartılmıştır. Yine, diseke edilen hayvanlarda rete mirabile epidurale caudale ve rete chiasmaticum'un şekillenmediği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Epidurale Rostrale Rete Mirabile*, Saanen Tekesi.

INTRODUCTION

The brain in the artiodactyls is supplied by a unique and compact vascular network intercalated in the course of different arteries contributing to the nourishment of this organ, the rete mirabile epidurale. Overall, the rete is constituted bilaterally by the various branches of the arteria maxillaris and basioccipital arterial plexus (Sisson and Grossman, 1964; Gillilan, 1974; Patea et al., 1986; Dursun, 2000), and by the arteria carotis interna present at neonatal stage (Getty, 1975; Uehara et al., 1978; Zguigal and Ghosal, 1991). However, only the rete mirabile epidurale rostrale and caudale are formed and connected in the ox, only rostral one is present in the sheep and goat (NAV, 2005).

The presence of the epidural rete mirabile, both the rostral and caudal ones, has been stimulating the particular interest of researchers who seek to reveal its physiological function. It has been documented amply in artiodactyls such as oxen, sheep, goat, and camel (Patea et al., 1986; Zguigal and Ghosal, 1991; Ocal and Aslan, 1994). However, very little focus has so far been given to the variations of the rete among the different species of the same genus; in this study, it is the small ruminantia. Therefore, this study was conducted to document the structural nature of the rete mirabile epidurale rostrale in the Saanen goat. The findings were compared with those reported in the literature.

MATERIALS and METHODS

The heads of ten male mature Saanen goats (11 months old, approximately 42 kg in weight and with a known pedigree) were obtained from a local slaughterhouse immediately after slaughter. The blood was washed out of the vascular system with acetone ($\text{CH}_3\text{COOCH}_3$) and 0.9 % physiologic saline through the common carotid artery. Takilon (100 ml liquid monomethylmethacrylate, 21 gr powder

polymethylmethacrylate, and 8 gr red dye), used as the filling content for corrosion cast, was then injected through the same vessel as described by Sindel et al. (1990) and Tompsett (1970). The specimens were kept for 24 hours for polymerization in tap water at room temperature, and were put in an oven at 35-40°C in 30 % KOH solution for maceration. The remnants of the soft tissue were cleaned and the photographs of the rete were taken. *Nomina Anatomica Veterinaria* (NAV, 2005) was employed for the anatomical nomenclature.

RESULTS

The rete mirabile epidurale rostrale (Fig. 1/A) in the Saanen goat was determined to be highly complex. It was formed by branches from the arteria maxillaris (Fig. 1/1). Bilaterally, there were two different branch origins arising from this artery; a caudal thick rete branch (Fig. 1/2), *ramus caudalis ad rete mirabile epidurale rostrale*, and a number of 3-5 rostral thinner rete branches (Fig. 1/3), *rami rostrales ad rete mirabile epidurale rostrale*. These branches constructed a meshwork of various size arteries and arterioles consisting clearly of two lobes, which were linked posteriorly by means of several anastomotic branches.

The caudal thick rete branch, *r. caudalis ad rete mirabile epidurale rostrale*, arose from the arteria maxillaris at the level of the 1/3 of the rete, and joined the rete mirabile epidurale rostrale from the caudal aspect. Each branch later gave bilaterally 2-3 subbranches for the formation of the caudal component of the rete. The rostral rete branches, *rami rostrales ad rete mirabile epidurale rostrale*, arose from the arteria maxillaris either as a main trunk immediately sending the thinner subbranches right after its origin or as separate ones.

The distance between the origins of the *ramus caudalis* and *rami rostrales* was approximately 15.19 mm. Likewise, the distance between the entrances

of the right and left ramus caudalis to the rete was measured as meanly 23.24 mm. Besides, the distance between the entrances of the ramus caudalis and rami rostrales to the rete was approximately 26.24 mm. The triangular shaped right and left components of the rete mirabile epidurale rostrale were observed to anastomose, showing a rostrally V-shaped extension. This anastomose was not seen in one of the materials.

Each arteria carotis interna on both sides was the only one arising from the rostro-dorsal aspect of the rete as a thick vessel (approximately 2.16 mm in diameter). It descended caudally with a sharp angle right after its origin, joining the circulus arteriosus cerebri while giving off the caudal communicans artery.

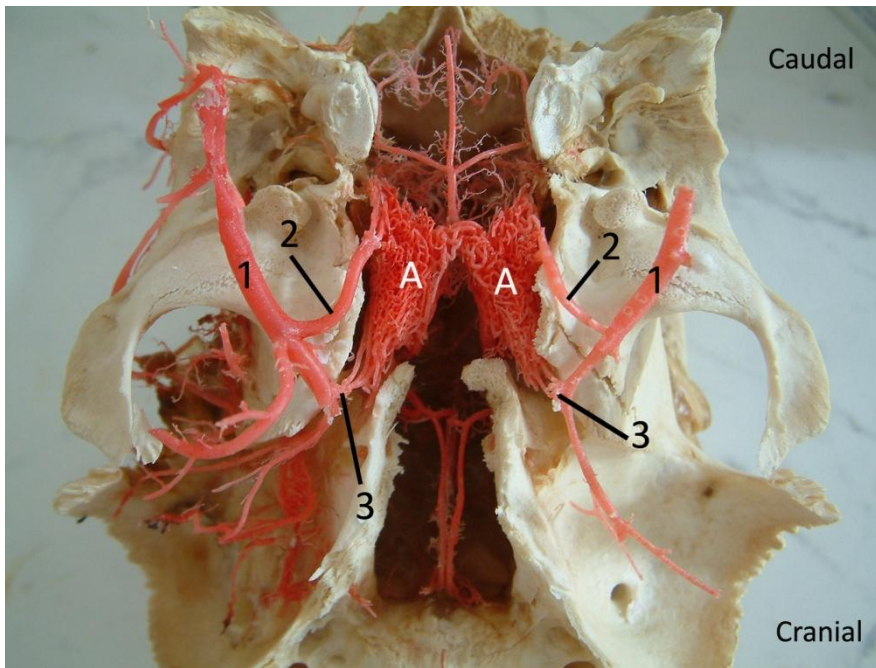


Figure 1. Ventral view of the rostral epidural rete mirabile in the Saanen goat, displaying the structural pattern. A) the rostral epidural rete mirabile, 1) the maxillary artery, 2) the caudal thick rete branch, 3) rostral thinner rete branches.

Şekil 1. Saanen tekesinde rete mirabile epidurale rostrale'nin ventralden görünümü. A) rete mirabile epidurale rostrale, 1) arteria maxillaris, 2) ramus caudalis ad rete mirabile epidurale rostrale, 3) rami rostrales ad rete mirabile epidurale rostrale

DISCUSSION

The rete mirabile epidurale in artiodactyls is a meshwork of various size arteries and arterioles, exerting very essential functions such as buffering the blood pressure and flow to the brain since the retial arteries are thicker than the afferent and efferent vessels joining into and leaving the rete, respectively (Edelman et al., 1972), regulating brain tissue temperature, and playing a role on the passage of some steroids and peptides from venous vessels to these arterial ones (Krzymowski et al., 1992). A decrease in the cerebral blood flow, particularly in the goat which has a thinner caudal communicans artery, obviates the importance of the epidural rete mirabile which compensates the

arterial blood flow to the brain in case of any blood requirement (Edelman et al., 1972; Dyce et al., 1987). Likewise, we thought that revealing the structural nature of the rete mirabile epidurale in the Saanen goat might contribute to clinical researches in this area. Consequently, we observed that the gross structure of the rete, in general, agrees with the reports of the literature with the exceptions indicated. Since, gross views and diameters of the retial arteries did not seem to differ markedly on the left and right sides, we did not focus on the side variation.

The rete mirabile epidurale in artiodactyls, namely large ruminants is formed mainly by the

branches from the arteria maxillaris, arteria meningeae media, arteria vertebralis, and arteria condylaris (Sisson and Grossman, 1964; Uehara et al., 1978; Pastera et al., 1986; Zguigal and Ghosal, 1991; Dursun, 2000). However, it has been shown in small ruminants including Akkaraman sheep and Angora goat, as indigenous Turkish breeds, that the rete is constructed by the caudal and rostral rami of the arteria maxillaris (Nur, 1992), just as we have conclusively observed in the Saanen goat. Besides, the rete has been shown to be formed by the branches of the arteria maxillaris, arteria ophthalmica externa, arteria carotis externa, and arteria meningeae media in the one-humped camel (Zguigal and Ghosal, 1991). It is noteworthy to mention that both the rete mirabile epidurale rostrale and caudale have been documented to be absent in small tropical ruminants such as lesser and greater mouse deer which have either an involuted or no arteria carotis interna even though they are ruminants (Katsuhiko et al., 2007). This literature report expresses new perceptions into the evolution of the arterial system in artiodactyls.

Studies have documented exact locations of the rete mirabile epidurale in various animals. It was located on both sides of the hypophyseal gland, yet has shown a V-shaped extension through the orbital foramen cranially and oval foramen caudally (Bamel et al., 1975; Uehara et al., 1978; Nur, 1992). Each side components of the rete mirabile epidurale are interconnected by several retial arteries. This connection has been reported to form loosely in sheep while very strong and resembling a "V" shape in goat (Nur, 1992; Dursun, 2000). We also observed this strong shape in the model of our study, the Saanen goat. Again, it is noteworthy that this connection was not observed in one species we observed in this study.

The rete mirabile epidurale rostrale and caudale display anastomoses through several retial arteries (Getty, 1975; Bamel et al., 1975; Nur, 1992). Of course, this was not the case in our study since

small ruminants lack the rete mirabile epidurale caudale, in our study it is the Saanen goat. Likewise, several reports indicate that the rete sends an extension along the optic nerve, which unites with its counterpart, forming a structure called rete chiasmaticum (Nur, 1992). Also, no such rete was observed in our study.

Overall, the finding of this study has shown that the general organisation of the rete mirabile epidurale rostrale of the Saanen goat resembles greatly that of the other small ruminants, yet the rete mirabile epidurale caudale and rete chiasmaticum lack.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are very grateful to Dr. Orhan BULUT and the Goat Milk Products Unit of Bolana of Bolu Feed A.C./Turkey for their valuable sample donation.

REFERENCES

- Bamel SS., Dhingra LD., Sharma DN., 1975. Anatomical studies on the arteries of the brain of buffalo (*Bubalus bubalus*) I. The rete mirabile cerebri, *Anat. Anz. Bd.*, 137, 440-446.
- Dyce KM., Sack WO., Wensing CJG., 1987. *Textbook of Veterinary Anatomy*, WB. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Dursun N., 2000. *Veteriner Anatomi II*, Medisan Yayınevi, p. 123, Ankara, Turkey.
- Edelman NH., Epstein P., Cherniack NS., Fishman AP., 1972. Control of cerebral blood flow in the goat; role of the carotid rete, *Am. J. Physiol.*, 223, 615-619.
- Getty R., 1975. *The Anatomy of the Domestic Animals*. 5th Ed., WB. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Gillilan LA., 1974. Blood supply to brains of ungulates with and without a rete mirabile caroticum, *J. Comp. Neur.*, 153, 275-290.
- Katsuhiko F., Hiroshi K., Motoki S., Junpei K., Dahlan bin I., Hideki E., 2007. Absence of carotid rete mirabile in small tropical ruminants: implications for the evolu-

- tion of the arterial system in artiodactyls, *J. Anat.*, 210, 112-116.
- Krzymowski T., Skipor J., Grzegorzewski W., 1992. Cavernous sinus and carotid rete of sheep and cows as a possible place for countercurrent exchange of some neuropeptides and steroid hormones, *An. Reprod. Sci.*, 29, 225-240.
- NAV 2005. *Nomina Anatomica Veterinaria*. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, 5th Ed. Gent, Belgium.
- Nur IH., 1992. Akkarama koyunu ve Ankara keçisinde a. carotis communis'in son dalları üzerinde karşılaştırmalı makro-anatomik ve subgross çalışmaları, Doktora tezi, S.Ü. Sağ. Bil. Ens., Konya, Turkey.
- Ocal MK., Aslan K., 1994. A quantitative study on the retial arteries in the bovine fetus, *Ann. Anat.*, 176, 151-153.
- Pastea E., Cornila N., Nicolescu V., 1986. A comparative study of the aspect of the epidural rete mirabile in the ox, pig, dog and cat. *Lucr. St. Seria C.*, 29, 7-20.
- Sindel M., Ucar Y., Ozkan O., 1990. Renal arterial system of the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Corrosion cast study, *I. Anat. Soc. India* 39,31-40.
- Sisson S., and Grossman JD., 1964. *The Anatomy of the Domestic Animals*. 4th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 626, 720.
- Tompsett DH., 1970. *Anatomical Techniques*, 2nd Ed. Edinburgh: E. & S. Livingstone.
- Uehara M., Kudo N., Sugimura M., 1978. Morphological studies on the rete mirabile epidurale in the calf, *Jap. J. Vet. Res.*, 26, 11-18.
- Zguigal H., Ghosal NG., 1991. Gross and histologic study of the rostral epidural rete mirabile and the cavernous sinus in one-humped camels, *Am. J. Vet. Res.*, 52, 1173-1177.



Yetişkin Bildirincinların Gastrointestinal Sisteminde Gastrin, Somatostatin ve Serotonin Salgılayan Hücreler Üzerine İmmunohistokimyasal Bir Araştırma*

Nejdet ŞİMŞEK^{1✉}, Ali KARADENİZ², Zekeriya ÖZÜDOĞRU³, Adem KARA¹, İsmail CAN¹

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum.
2. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum.
3. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, 25240, Erzurum.

Özet: Bu araştırmada, yetişkin bildirincinların gastrointestinal sistemindeki gastrin (G hücreleri), somatostatin (D hücreleri) ve serotonin (EC hücreleri) immunopozitif hücrelerin dağılımı, yerleşimi ve sıklığının immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada, 10 adet sağlıklı yetişkin bildirincinin glanduler ve musküler mideleri, duodenum, jejunum ve ileumları materyal olarak kullanıldı. Alınan doku kesitleri streptavidin biotin peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal olarak boyandı. Gastrin ve serotonin immunopozitif hücrelerin glanduler ve musküler midelere göre ince barsaklarda daha fazla olduğu belirlendi. Bununla birlikte, somatostatin immunopozitif hücreler mide ve ince barsakların tamamında çok az sayıda görüldü. Ayrıca, G, D ve EC hücrelerinin her iki midede genellikle kapalı tip, ince barsak bölümlerinde ise hem açık hem de kapalı tip endokrin hücreler halinde bulunduğu da tespit edildi. Sonuç olarak, bildirincinların glanduler ve musküler mideleri, duodenum, jejunum ve ileumlarında G, D ve EC hücrelerinin değişen sayılarda bulunduğu belirlendi. Ayrıca, duodenum ve ileum mukozasında, G ve EC hücrelerinin D hücrelerine göre daha fazla bulunduğu da tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Bildirincin, Enteroendokrin hücreler, Gastrointestinal sistem, İmmunohistokimya.

An Immunohistochemical Study on the Gastrin-, Somatostatin- and Serotonin-Releasing Cells in the Gastrointestinal System of Adult Quails

Abstract: In this research, we aimed to determine the mucosal localisation and frequency of immune positive cells of gastrin (G cells), somatostatin (D cells) and serotonin (EC cells) in gastrointestinal tract of adult quails using immunohistochemical staining methods. For this purpose, proventriculus, gizzard, duodenum, jejunum and ileum of 10 healthy adult quails were used as materials. Tissue sections taken were stained immunohistochemically by streptavidin biotin peroxidase method. Gastrin- and serotonin-immunopositive cells were determined to be abundant in small intestines, as compared to those of proventriculus and gizzard. However, somatostatin immunopositive cells were observed in a few numbers in stomach and all segments of small intestines. Moreover, the G, D and EC cells were also demonstrated usually to be in closed type in the proventriculus and gizzard, but in both open and closed types in all segments of small intestines. As a result, the G, D and EC cells were determined in varying numbers in the proventriculus, gizzard, duodenum, jejunum and ileum of the quails. Also, the G and EC cells were observed numerously in the mucosal membranes of duodenum and ileum, as compared to that of D cells.

Key words: Quail, Enteroendocrine cells, Gastrointestinal system, Immunohistochemistry.

✉ Nejdet ŞİMŞEK

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum, e-posta: nsimsek-58@hotmail.com

*Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi BAP Yönetimi tarafından 2008/190 nolu proje olarak desteklenmiştir.

GİRİŞ

Enteroendokrin hücreler yemek borusundan başlayarak tüm sindirim sistemi boyunca farklı sayıda ve yoğunluklarda bulunabilen özelleşmiş hücrelerdir. Bu hücrelerin histolojik yapıları, salgıları ve etki mekanizmaları hem organ bölümleri arasında hem de türler arasında farklılık gösterebilmektedir (Ku ve ark., 2000). Enteroendokrin hücrelerin ortak özellikleri sitoplazmalarında ya polipeptid hormonlarını ya da biyojenik aminler olan epinefrin, norepinefrin ve serotonin gibi hormonları içermeleridir. Bu hücreler, amin prekürsörlerini biriktirebilme ve aminoasit dekarboksilaz aktivite-lerini gösterebilmeleri nedeniyle APUD (amine-precursor uptake and decarboxylation) hücreleri, gümüş tuzları ile boyandıkları için arjentaffin veya arjirofil hücreler olarak isimlendirilmektedir. Son yıllarda ise bu ifadelerin yerine DNES (Diffuse Neuro Endocrine System) hücreleri terimi daha fazla kullanılmaya başlanmıştır (Naruse ve ark., 2005; Girgin ve ark., 2009). Gastrointestinal sistemdeki DNES hücrelerinin en az 12 farklı tipi [sekretin (S), kolesistokinin (CCK-pancreozym), serotonin (enterokromaffin-EC-5HT), vasoaktif intestinal peptid (VIP, D₁), glisentin (enteroglukagon-GLI), nöropeptid Y (NPY), peptid YY (PYY), somatostatin (D), gastrin (G), urogastron (gastrin inhibitör faktör, GIP), grelin ve motilin hücreleri] mevcut olup 20'den fazla hormon ve nörotransmitter madde sentezledikleri bilinmektedir (Girgin ve ark., 2009). Sindirim sistemi mukozasında bol miktarda bulunduğu bilinen D, EC, S ve G hücrelerinin mide-barsak pH'sını düzenleme ve sindirim enzimlerinin salgılanmasında oldukça önemli rolleri vardır (Sundler ve Håkanson, 1991).

Gastrin, midenin piloris bölgesinde ve duodenumda bulunan G hücreleri tarafından salınan peptid yapılı bir hormondur. G hücreleri kromogranin A ile çok yoğun boyanan, arjirofilik (gümüşü seven) (Sundler ve Håkanson, 1991), düşük yoğunlukta polimorf granüllerle beraber yuvarlak yoğun granüllere ve elektron açık hale içeren granüllere de sahiptirler. Bu granüllerin yapısı hücre

aktivitesine ile hastalık durumuna göre değiştiği ve açlık durumunda G hücre sayısında bir artışın olduğu bildirilmektedir (Oomori ve ark., 1997b). Kazların sadece duodenum, jejunum ve kolon mukozasında rastlanan G hücreleri (Gulmez ve ark., 2003), ratlarda mide bezlerinin bazal kısmında, insanlarda ise bezlerin üst kısmında yerleşmişlerdir (Sundler ve Håkanson, 1991).

Peptid yapılı somatostatin hormonunu salgılayan D hücreleri, pankreas ve gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunan endokrin hücrelerdendir. Salgı granülleri bildirincinların pankreasında (Şimşek ve Alabay, 2008) ve tavukların sindirim sisteminde elektron az yoğun ve elektron çok yoğun, oval ya da göz yaşı damlası şeklinde görülebilmektedir (Aluments ve ark., 1977). Bu hücreler, pankreastan salınan insülin ve glukagon hormonları ile sindirim sisteminde gastrin, kolesistokinin, sekretin, motilin ve tuz asiti (HCl)'nin salınımını baskılamaktadır (Ku ve ark., 2000). D hücreleri, tavşan ve domuzda midenin pilorus bölgesinde; kedi, domuz ve insanların duodenumlarında, tavukların glanduler mide ve musküler mide-duodenum geçidinde çok sayıda bulunmaktadır (Aluments ve ark., 1977). Diğer yandan, bu hücrelerin tavukların duodenumunda (Aluments ve ark., 1977), yetişkin ördeklerin (Ku ve ark., 1998) ve kazların (Ku ve ark., 2000) merkel divertikulumunda az sayıda bulunduğu bildirilmektedir.

Serotonin, sindirim sisteminde gıda alımına bağlı aktivite gösteren, epifiz bezinde ise ışığın varlığına bağlı olarak triptofandan sentezlenen bir hormondur. Bu hormonu salgılayan hücreler enterokromaffin ya da 5HT hücreleri olarak da bilinmektedir (Cetin ve ark., 1994; Solcia ve ark., 2000). Serotonin, epifizdeki melatonin salgılayan hücrelerin yanı sıra gastrointestinal sistemdeki EC hücreleri, miyenterik pleksuslardaki serotonerjik nöronlar ve bağ doku mast hücreleri ile kan dokudaki trombositlerce salındığı bildirilmektedir

(Rawdon ve Andrew, 1994; Gershon ve Tack, 2007). Bu hücreler kriptlerde epitel proliferasyonuna (Gershon ve Tack, 2007), düz kasların kontraksiyonlarına, iştah, uyku ve hafıza gibi pek çok önemli fonksiyonların regülasyonuna aracılık etmektedir (Sikander ve ark., 2009). Ayrıca, EC hücrelerin aşırı derecede uyarılması kolon motilitesini ve suyun barsak lümeninde tutulmasını artırarak ishalleri neden olduğu da bildirilmektedir (Coleman ve ark., 2006; Bueno ve ark., 2007).

Şimdiye kadar kanatlı hayvanların entero-endokrin hücreleri üzerine birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen (Aluments ve ark., 1977; Yamaguchi ve ark., 1986; Yamaguchi ve ark., 1987; Bezeuidenhout ve Van Aswegen, 1990; Çınar ve Diler, 2008; Gencer Tarakçı ve ark., 2008), özellikle bildircin sindirim sisteminde yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada, bildircin mideleri ve ince barsaklarındaki G, D ve EC hücrelerinin immunohistokimyasal dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra başlandı. Çalışmada, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, bildircin yetiştirme ünitesinden sağlanan 10 adet 4-6 aylık yetişkin bildircinler (*Coturnix coturnix japonica*) kullanıldı. Eter anestezisi altında kesilen bildircinlerden glanduler mide (ön mide), musküler mide (taşlık), duodenum, jejunum ve ileumdan alınan doku örnekleri histokimyasal ve immunohistokimyasal değerlendirmeler için Bouin's solusyonunda 18 saat süreyle tespit edildi. Bu dokular dereceli alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra paraplastla bloklandı. Bloklardan alınan 4-5 mikronluk seri kesitlere organın genel yapısını belirlemek için Crossman tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyaması; gastrin, somatostatin ve serotonin salgılayan hücrelerin immunohistokimyasal yöntemle belirlenmesi için streptavidin biotin peroksidaz boyaması uygulandı.

Immunohistokimyasal boyamalar için alınan kesitler, deparafinize edildikten sonra suya kadar getirilerek endojen peroksidazların engellenmesi için %3'lük H₂O₂ (70 cc metanol, 27 cc PBS, 3 cc H₂O₂) ile nonspesifik reaksiyonların engellenmesi için de bovine serum albumin ile 20'er dakika muamele edildikten sonra anti-gastrin (Leica, NCL-GASp, 402207, rabbit polyclonal, sulandırma oranı 1/50), anti-somatostatin (Polyclonal Rabbit Anti-Human Somatostatin- DAKO- A0566, sulandırma oranı 1/200) ve anti-serotonin (DAKO, M 0758, Monoclonal mouse, sulandırma oranı 1/50) primer antikolarıyla 1'er saat inkube edildi. Daha sonra LSAB (DAKO) kit içerisinde bulunan biotinlenmiş sekonder antikor ve Streptavidin-HRP ile 30'er dakika inkubasyona bırakıldı. Boyama işlemi sonunda 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) kromojen maddesi (1 tablet + 30 cc tris + 10 µl H₂O₂) ile 10 dakika boyandıktan sonra Harris'in hematoksileni ile çekirdek boyamaları yapıldı. Işık mikroskopik incelemelerde kırmızı-kahverengi reaksiyon veren hücreler pozitif olarak değerlendirildi. Semikantitatif analiz için her bir hayvandan alınan 5 adet kesitin 5 farklı mikroskopik alanındaki (X40 objektif alanı) immunopozitif hücreler sayılarak ortalamaları alındı. Semikantitatif değerlendirmede immunopozitif hücrelere rastlanılmamış ise - ; 1-5 arasında +; 6-10 arasında ++; 11-15 arasında +++; 15 den daha fazla ise ++++ ile skorlandı.

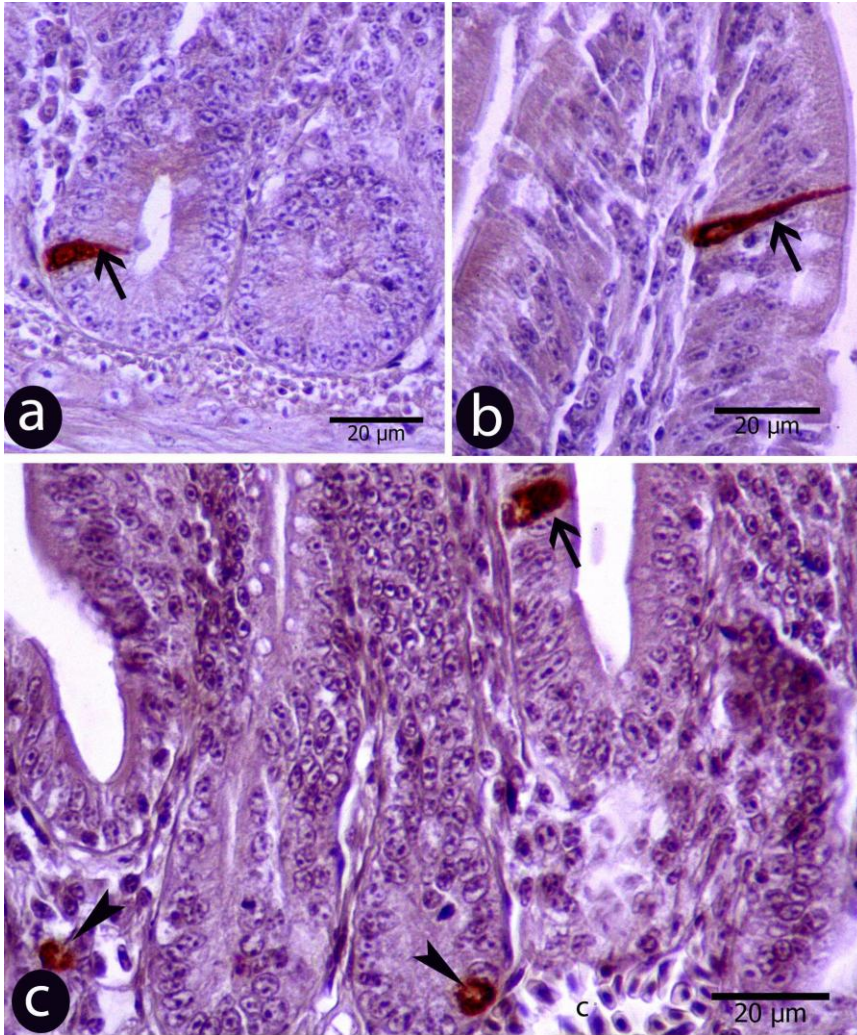
BULGULAR

Histokimyasal Bulgular

Bildircinlerde sindirim sisteminin genel histolojik yapısını incelemek için yapılan histokimyasal boyamalarda, glanduler ve musküler midenin mukoza epitelinin tek katlı prizmatik epitelden, lamina propriya (Lp)'larının kript benzeri bezlerce doldurulmuş olduğu saptandı. Glanduler midenin submukoza kısmında çok geniş alanı dolduran piramidal salgı epitelli bezlerin bulunduğu gözlemlendi.

İnce barsakların histokimyasal boyamalarında bilinen histolojik yapılardan farklı olarak duodenum, jejunum ve ileumlarında Paneth hücrelerinin bulunmadığı tespit edildi. Barsaklar ve midelerde endokrin hücrelerin belirlenmesi için yapılan boyamalarda gastrin, somatostatin ve serotonin immunopozitif hücrelerin Lp'da, mukoza ve kript epitelleri arasında hem açık hem de kapalı tip endokrin hücreler halinde buldukları gözlemlendi

(Şekil 1). Barsak epitel hücreleri arasına sıkışmış, sitoplazmaları lümenine kadar uzanan, apikal sitoplazmaları granüllerle dolu hücreler açık tip endokrin hücreler olarak değerlendirilirken, oval ya da piramidal şekilli, granüllerle dolu sitoplazmaları bazal membrana doğru yönelmiş, özellikle Lp'da damarlara yakın alanlarda rastlanan hücrelerin kapalı tip endokrin hücreler olduklarına karar verildi (Şekil 1).



Şekil 1. Mide ve ince barsaklarda açık ve kapalı tip endokrin hücreler,
a: Gastrin immunopozitif açık tip hücre,
b: Somatostatin immunopozitif açık tip hücre,
c: Serotonin immunopozitif açık ve kapalı tip hücreler. Açık tip hücreler (oklar), kriptlerdeki ve Lp kapalı tip hücreler (ok başı). Streptavidin biotin peroksidaz boyama.

Figure 1. Opened and closed type endocrine cells in the stomach and small intestines.
a: Gastrin immunopositive opened type cell,
b: Somatostatin immunopositive opened type cell
c: Serotonin immunopositive opened and closed type cells. Opened type cell (arrows), closed type cells in the crypts and Lp (arrow heads). Streptavidin biotin peroxidase stain.

İmmunohistokimyasal Bulgular

Mide ve barsak mukozasında bulunan gastrin, somatostatin ve serotonin salgılayan hücrelerin streptavidin biotin peroksidaz yöntemi ile boyanmaları sonucunda glanduler ve musküler

mide, duodenum, jejunum ve ileumların tamamı az yada çok sayıda G, D ve EC hücrelerini içerdiği görüldü. Bu hücrelerin gastrointestinal sistemde görülme sıklığı ve dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Gastrointestinal organlarda bulunan G, D ve EC hücrelerinin semi-kantitatif analizi (n=10).**Table 1.** The semi-quantitative analyses of the G-, D- and EC cells in the gastrointestinal organs (n=10).

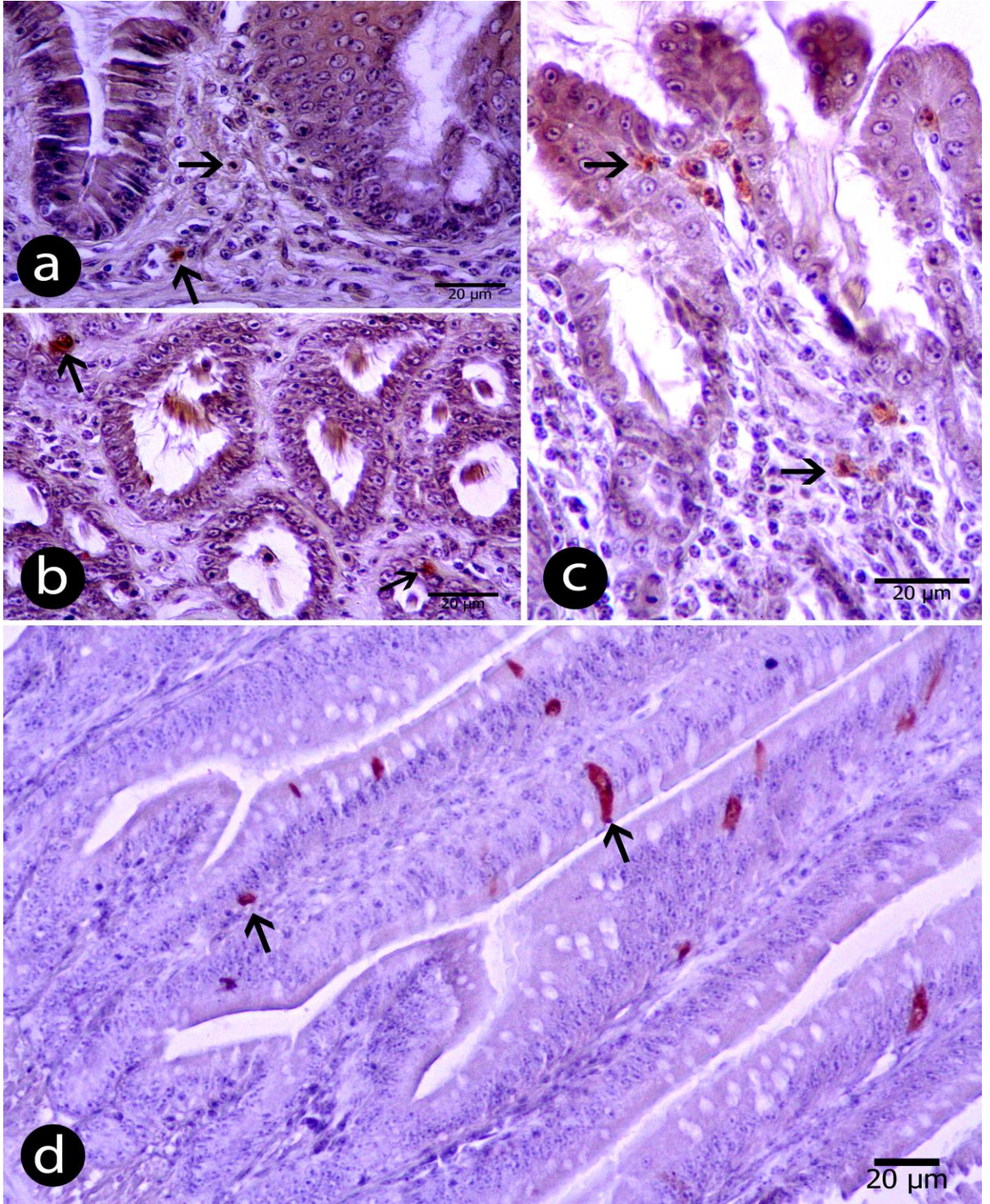
Organ ve bölümleri	Gastrin		Somatostatin		Serotonin	
	Açık tip	Kapalı tip	Açık tip	Kapalı tip	Açık tip	Kapalı tip
Glanduler mide	Mukoza	-	-	+	-	-
	Kript	+	-	-	-	-
	Lp	-	+	-	-	-
	Sm	-	-	-	+	-
Musküler mide	Mukoza	-	-	-	-	++
	Kript	+	-	+	-	++
	Lp	-	+	-	-	-
Duodenum	Mukoza	++++	++	++	-	+++
	Kript	++	+	++	+	++
	Lp	-	+	-	+	-
Jejunum	Mukoza	+++	+	++	-	+++
	Kript	-	-	++	+	++
	Lp	+	++	+	+	+
İleum	Mukoza	++++	+	++	-	+++
	Kript	-	-	++	+	++
	Lp	-	+	-	+	-

Anti-gastrin ile boyamalarda glanduler ve musküler midelerin Lp ve kriptlerinde birkaç adet immunopozitif reaksiyon veren G hücreleri görülmesine rağmen (Şekil 2a-c), glanduler midenin submukozasında bulunan bezlerde bu hücrelere rastlanmadı. Diğer yandan duodenum, jejunum ve ileumda mukoza epitelleri arasında çok sayıda, Lp'da ise az sayıda immunopozitif G hücreleri belirlendi. Jejunum ve ileumdan farklı olarak duodenumda kript epitelleri arasında da pozitif reaksiyon veren hücreler görüldü. Ayrıca ince barsak bölümleri arasında gastrin salgılayan hücreler açısından en zengin bölümün ileum olduğu saptandı (Şekil 2d). Gastrointestinal sistemde, özellikle barsaklarda bulunan G hücrelerinin daha çok mukoza epitel hücreleri arasında lümene kadar ulaşan sitoplazmaları ile dikkati çeken açık tip endokrin hücrelerden oldukları da kesit görüntüleriyle tespit edildi (Şekil 1a ve 2d).

Somatostatin immunopozitif reaksiyon veren D hücrelerine, glanduler midenin mukoza epitelleri ve submukozadaki bezleri arasında (Şekil 3a-b),

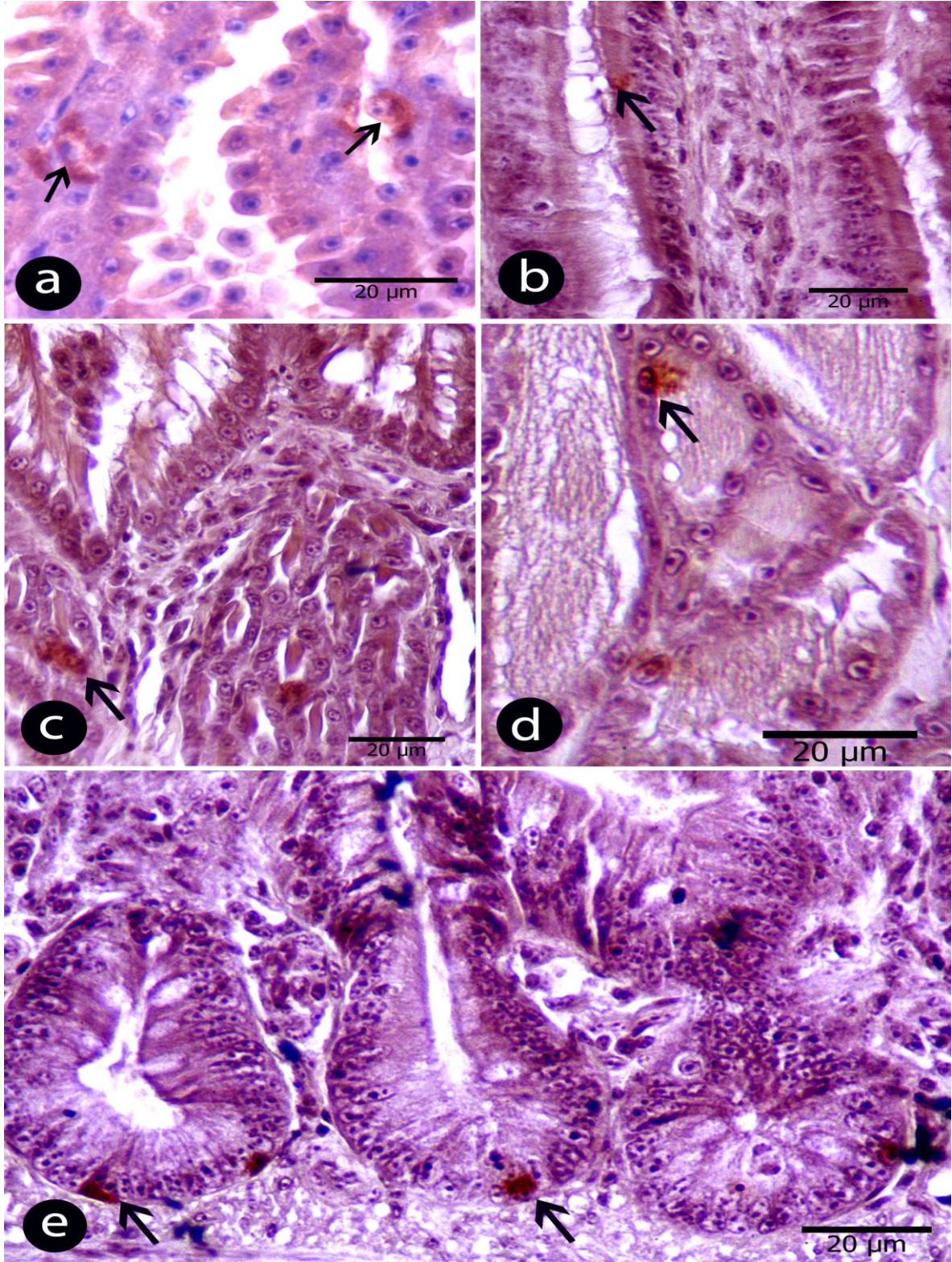
musküler midenin ise Lp ve kript epitelleri arasında (Şekil 3c-d) çok az sayıda rastlandı. İnce barsak bölümlerinin tamamında mukoza ve kript epitelleri arasında ve Lp'da bulunduğu gözlemlenen bu hücrelerin duodenum, jejunum ve ileumda bulunma sıklığı açısından önemli bir farklılık belirlenmedi. Bu hücrelerin özellikle mukozada açık tip (Şekil 1b), kript ve Lp'da kapalı tip endokrin hücreler halinde buldukları da tespit edildi (Şekil 3a, d ve c).

Serotonin immunopozitif hücrelere glanduler midenin bezleri arasındaki bağ dokuda, musküler midenin ise kript ve mukoza epitelleri arasında çok az sayıda olduğu görüldü. Diğer yandan, ince barsak bölümlerinin tamamında, kript ve mukoza epitelleri (Şekil 1c ve 3e) ile Lp'da EC hücrelerinin yoğun bir şekilde bulunduğu tespit edildi. EC hücrelerinin özellikle mukoza epitelleri arasında açık tip, kript ve bağ dokularında ise kapalı tip endokrin hücreler halinde yerleştikleri gözlemlendi (Şekil 1c). Barsak bölümleri arasında serotonin immunopozitif hücre açısından en zengin bölümün ileum mukoza ve kriptleri olduğu da tespit edildi.



şekil 2. Mide ve ince barsaklardaki gastrin immunopozitif hücresler, **a:** Glanduler mide, **b-c:** Musküler mide, **d:** İleum, immunopozitif G hücreleri (oklar). Streptavidin biotin peroksidaz boyama.

Figure 2. The gastrin immunopositive cells in the stomach and small intestines **a:** Glandulary stomach, **b-c:** Muscular stomach, **d:** Ileum. Immunopositive G cells (arrows). Streptavidin biotin peroxidase stain.



şekil 3. Somatostatin (a-d) ve serotonin (e) immunopozitif hücreler, **a-b:** Glandüler mide **c-d:** Musküler mide, **e:** İleum, immunopozitif hücreler (oklar). Streptavidin biotin peroksidaz boyama.

Figure 3. Somatostatin (a-d) and serotonin (e) immunopositive cells. **a-b:** Glandulary stomach, **c-d:** Muscular stomach **e:** Ileum. Immunopositive cells (arrows). Streptavidin biotin peroxidase stain.

TARTIŞMA

Sindirim sistemi, vücuda dışarıdan alınan gıdaların moleküler yapılarına ayrıldığı ve buradaki hücrelerce emilimin gerçekleştirildiği organları içermektedir. Bu emilim ve regülasyonda en önemli fonksiyonu hormonal salgı üreten endokrin hücreler olan DNES hücreleri üstlenmektedir. Endokrin hormon metabolizması ile kanatlıların canlı ağırlık ve yumurta verimi arasındaki ilişki, türe ve organlara göre farklı dağılım göstermeleri DNES hücreleri üzerine birçok çalışma yapılmasına neden olmuştur (Salvi ve Renda, 1986; Rawdon ve Andrew, 1994; Gulmez ve ark., 2003, Çınar ve Diler, 2008; Gencer Tarakçı ve ark., 2008). Bununla birlikte, bildirincinların sindirim sistemindeki endokrin hücreler üzerine yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması nedeniyle bu çalışmada immunhistokimyasal yöntemlerle G, D ve EC hücrelerinin sindirim sistemindeki dağılımları ve histolojik yapıları belirlenmiştir.

Mukozal epitel hücreleri arasında bulunan DNES hücrelerinin isimlendirilmesi ya elektron mikroskopik özelliklerine bakılarak ya da spesifik immunhistokimyasal boyamalarla yapılabilmektedir. Endokrin hücreler tipik olarak granülleri daha çok bazale ya da apikaline yerleşmiş mukoza epitelleri arasında tek tek yada bir kaç adet hücre grubu halinde bulunan hücreler olup fonksiyonuna göre (S, CCK, EC, VIP, GLI, NPY, PYY, D, G, GIP, grelin ve motilin hücreleri) isimlendirilebildiği gibi salgılama şekline göre de açık yada kapalı tip olmak üzere 2 farklı sınıfa ayrılabilir (Kobayashi ve ark., 1971; Solcia ve ark., 2000; Girgin ve ark., 2009). Açık tip endokrin hücreler, salgılarını akıtıcı kanal ya da kollum glandulaya ihtiyaç duymadan mukozaya pinositoz yoluyla veren, gastrointestinal mukoza hücreleri arasında apikal ucu lümene kadar uzanan, bazal membran üzerine oturmuş ve sitoplazmik granülleri daha çok apikal uçta birikmiş olan piramidal yapılı hücrelerdir. Kapalı tip endokrin hücreler ise mukozal derinliklerde bulunan, genellikle sitoplazmaları luminal yüzeye kadar ulaşmayan, granülleri bazal membrana doğru birikmiş ve salgılarını damarlar

yoluyla ilgili reseptörlere gönderen, yuvarlak ya da piramidal yapılı hücrelerdir (Cetin ve ark., 1994; Solcia ve ark., 2000). Genellikle kapalı tip endokrin hücreler mide mukozasında görülürken, açık tip hücreler ise barsak kriptlerinde bulunmaktadır (Park ve ark., 1999). Bazı araştırmacılar ise midenin antral mukozasındaki endokrin hücrelerin kısa mikrovilluslu, pinositik veziküllerden zengin açık tip hücreler olduğunu bildirmişlerdir (Dall'Aglio ve ark., 1998; Bordi ve ark., 2000). Bu çalışmada da genellikle mukoza ve kript epitelleri arasında bulunan hücrelerinin açık tip, Lp ve bezler arasındaki bağ dokuda bulunanların ise kapalı tip endokrin hücreler oldukları belirlendi. Çalışmada, immuno-histokimyasal olarak incelenen G, D ve EC hücrelerinin genellikle açık tip, çok az sayıda da kapalı tip endokrin hücreler oldukları saptandı.

Gastrin, mide ve duodenum mukozasında bulunan G hücrelerinden salgılanan mide asitinin artmasına neden olan peptid yapılı bir hormondur. G hücreleri genellikle kanatlı türlerinde mide ve barsaklarda bulunduğu bildirilse de bazı türlerde G hücrelerinin dağılımı farklılık gösterebilir (Okamoto ve ark., 1980; Rawdon ve Andrew, 1981). Ördeklerin pilorisinde çok fazla sayıda bulunun gastrin immunopozitif hücreler, musküler mide ve duodenumda düşük yoğunluklarda yer almaktadır (Okamoto ve ark., 1980). Bazı çalışmalarda ise G hücrelerinin tavuk embriyolarının özofaguslarında ve glanduler midelerinde (Rawdon, 2001), tavukların (Oomori ve ark., 1997a) ve bildirincinların (Yamada ve ark., 1980) glanduler midesinde, kazların ise sadece duodenum ve jejunumlarında bulunduğu bildirilmektedir (Gulmez ve ark., 2003). Diğer yandan kazlarda merkel divertikulumunda (Ku ve ark., 2000) ve kolonda (Gulmez ve ark., 2003) orta ve çok düşük yoğunluklarda G hücreleri bulunabilmektedir. Ratlarda midedeki bezlerin bazal kısmında, insanlarda ise bezlerin üst kısmında görülen G hücreleri (Sundler ve Håkanson, 1991), kazların sekumunda kapalı tip endokrin hücreler olarak görülebilir (Ku ve ark., 2000). Yapılan çalışmada, gastrin salgılayan

hücreler ile ilgili bulguların Sundler ve Håkanson (1991)'un bulgularıyla paralellik gösterdiği tespit edildi. Gulmez ve ark. (2003)'nin kazlarda sadece duodenum ve jejunum ile ilgili bulgularına ek olarak, bildirincilerde glanduler ve musküler midelerde ve ince barsakların tamamında da G hücrelerinin bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, jejunum ve ileum kriptlerinde gastrin immunopozitif hücreler görülmemekle birlikte, ileumun mide ve barsaklar arasında en fazla G hücresi içeren organ olduğu tespit edilmiştir.

Somatostatin diğer DNES hücrelerinin aktivitelerini inhibe etme özelliğinde olan peptid yapılı bir hormon olup memeli ve kanatlı hayvanların pankreas, mide ve barsaklarında görülebilen D hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Farklı kanatlı türlerinin kuluçka döneminde yapılan çalışmalarda, bildirincin (Yamaguchi ve ark., 1986), tavuk (Martinez ve ark., 1993) ve ördeklerin (Castaldo ve Lucini, 1991) glanduler midelerinde somatostatin pozitif hücrelerin bulunduğu, diğer yandan bu hücrelerin tavuklarda (Çınar ve Diler, 2008), bildirincilerde (Yamaguchi ve ark., 1987) ve ördeklerde musküler midede de görülebildiği bildirilmiştir (Castaldo ve Lucini, 1991). Bezuidenhout ve Van Aswegen (1990), yetişkin deve kuşlarının ince barsaklarında çok sayıda D hücrelerinin bulunduğunu bildirirse de, Gencer Tarakçı ve ark. (2008), sindirim sisteminde yalnızca midede (musküler midede bir kaç adet, glanduler midede çok sayıda) bu hücrelerin bulunduğunu saptamıştır. Çınar ve Diler (2008), yetişkin tavukların musküler midelerin D hücrelerinin bulunmadığını bildirmesine rağmen, güvercinlerin glanduler midelerinde (Saito ve ark., 1989), yetişkin tavukların glanduler mide ve pilorusunda (Wu ve ark., 1992; Rawdon, 2001), kazların (Gulmez ve ark., 2003) ve tavukların ince barsaklarında bu hücrelerin bulunduğu bildirilmektedir (Aluments ve ark., 1977; Rawdon, 2001). Ayrıca, Aluments ve ark., (1977) tavukların glanduler mide ve musküler mide-duodenum geçidinde çok sayıda, duodenumda ise az sayıda D hücresi

bulduğunu bildirmekle beraber, bildirincilerin glanduler ve musküler midesinde, duodenum, jejunum ve ileumlarında az sayıda somatostatin immunopozitif hücrenin bulunduğu tespit edilmiştir.

Mide asiti ve düz kas kontraksiyonlarını inhibe eden, damar geçirgenliği üzerine oldukça etkili bir hormon olan serotonin (Castaldo ve Lucini, 1991) sindirim sisteminde kriptlerin bazal yarımında ve yüzey epitel hücreleri arasında bulunan EC hücreleri tarafından salgılanmaktadır (Cetin ve ark., 1994; Gershon ve Tack, 2007). EC hücrelerinin kapalı ve açık olmak üzere 2 farklı tipinin bulunduğu, kapalı tipleri sinirsel ve hormonal uyarımlarla, açık tiplerinin ise sindirim sistemi lümen pH'sı ve besin alımına bağlı olarak aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Cetin ve ark., 1994; Solcia ve ark., 2000). Park ve ark. (1999), EC hücrelerinin kazların midelerinde bulunmadığını bildirirse de bazı araştırmacılar (Watanabe ve ark., 1987; Rawdon ve Andrew, 1994) tavukların glanduler midelerinde bu hücrelerin bulunduğunu göstermişlerdir. EC hücreleri daha çok ince barsaklarda açık tip hücreler olarak görülmekle birlikte, ördeklerin (Ku ve ark., 1998) ve kazların (Ku ve ark., 2000) merkel divertikulumunda az sayıda açık ve kapalı tip endokrin hücreler olarak görülebileceği de bildirilmiştir. Deve kuşlarında yapılan bir araştırmada, EC hücrelerinin musküler mide hariç bütün sindirim sistemi kanalı boyunca gözlemlendiği fakat duodenum ve ileumda çok sayıda, glanduler mide ve kolonda ise bir kaç adet bulunduğu bildirilmektedir (Gencer Tarakçı ve ark., 2008). Yetişkin bildirincilerde serotonin salgılayan EC hücrelerinin özellikle duodenum, jejunum ve ileum villus epitellerinde açık tip, kript bazalinde ise hem açık hem de kapalı tiplerinin bulunduğu, ayrıca Lp'da kapalı tip hücrelerin bulunduğu da gözlemlendi.

Sonuç olarak, yetişkin bildirincilerin mide ve ince barsaklarının tamamında Lp, mukoza ve kript epitelleri arasında G, D ve EC hücrelerinin farklı yoğunluklarda da olsa bulunduğu belirlenmiş oldu. Bu hücreler arasından gastrin ve serotonin immunopozitif reaksiyonların özellikle duodenum ve

ileumda çok sayıda görüldüğü, somatostatin immunopozitif hücrelerin ise midelerde ve ince barsaklarda hemen hemen aynı yoğunlukta olmak üzere çok az sayıda yer aldığı tespit edildi. Bu çalışmadan elde edilen endokrin hücrelerin histokimyasal ve immunhistokimyasal özellikleri ve dağılımları ile ilgili bulguların ileride yapılacak histomorfolojik ve fizyolojik araştırmalara kaynak teşkil edebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aluments J., Sundler F., Hakånson R., 1977. Distribution, ontogeny and ultrastructure of somatostatin immunoreactive cells in the pancreas and gut. *Cell Tissue Res.*, 185, 465–479.
- Bezuidenhout AJ., Van Aswegen G., 1990. A light microscopic and immunocytochemical study of the gastrointestinal tract of the ostrich (*Struthio camelus*L.). *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 57, 37-48.
- Bordi C., D'adda T., Azzoni C., Ferraro G., 2000. Classification of gastric endocrine cells at the light and electron microscopical levels. *Micros. Res. Tech.* 48, 258–271.
- Bueno L., De Ponti F., Fried M., Kullak-Ublick GA., Kwiatek MA., Pohl D., Quigley EM., Tack J., Talley NJ., 2007. Serotonergic and non-serotonergic targets in the pharmacotherapy of visceral hypersensitivity. *Neurogastroenterol. Motil.*, 19 (Suppl. 1), 89-119.
- Castaldo L., Lucini C., 1991. An immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic duck. *Eur. J. Bas. Appl. Histo-chem.*, 35, 131-143.
- Coleman S., Foley S., Dunlop SP., Wheatcroft J., Blackshaw E., Perkins AC., Singh G., Marsden CA., Holmes GK., Spiller RC., 2006. Abnormalities of serotonin metabolism and their relation to symptoms in untreated celiac disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 4, 874–881.
- Cetin Y., Kuhn M., Kulaksız H., Adermann K., Bargsten G., Grube D., Forssmann WG., 1994. Enterochromaffin cells of the digestive system: Cellular source of guanylin, a guanylate cyclase-activating peptide. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA.*, 91, 2935-2939.
- Çınar K., Diler D., 2008. Localizations of cells that secrete bombesin, glucagon, somatostatin-14 in stomach (proventriculus and gizzard) in chicken (*Gallus gallus domestica* L.) during the prenatal and postnatal periods. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 55, 201-206.
- Gençer Tarakçı B., Yaman M., Bayrakdar A., Yaman I., 2008. Immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of the ostrich. *Medycyna Wet.*, 64, 64-67
- Dall'Aglio C., Scocco P., Ceccarelli P., Pedini V., 1998. Neuroendocrine cells in the gastro-intestinal tract of the wild boar. *Anat. Histol. Embryol.*, 27, 381-385.
- Gershon MD., Tack J., 2007. The serotonin signaling system: From basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*, 132, 397–414.
- Girgin A., Alabay B., Liman N., Özfiliz N., Gülmez N., Özcan Z., Yörük M., Erdost H., Aslan Ş., Ergün L., Zık. B., 2009. Veteriner Özel Histoloji, Editör, Özer A. 1. Baskı. Sayfa 73-76, 167-168
- Gulmez N., Nazli M., Aslan S., Liman N., 2003. Immunolocalisation of serotonin, gastrin, somatostatin and glucagon in entero-endocrine cells of the goose (*Anser anser*). *Acta Vet. Hung.*, 51, 439-449.
- Kobayashi S., Fujita T., Sasagawa T., 1971. Electron-microscope studies on the endocrine cells of the humangastric fundus. *Arch. Histol. Jap.*, 32, 429-444.
- Ku SK., Lee JH., Lee HS., 1998. The histological and immunohistological studies in the Meckel's diverticulum of the duck, *Anas platyrhynchos*, Linne. *Korean J. Vet. Res.*, 38, 450-454.
- Ku SK., Lee HS., Park KD., Lee JH., 2000. Immunohistochemistry of gastrointestinal endocrine cells in the Meckel's diverticulum of the Bean goose, *Anser fabalis latham*. *Korean J. Biol. Sci.*, 4, 375 -379.
- Martinez A., López J., Sesma P., 1993. Development of the diffuse endocrine system in the chicken proventriculus. *Cell Tissue Res.*, 271, 107-113.
- Naruse H., Gomi T., Kimura A., Adriaensen D., Timmermans JP., 2005. Structure of the respiratory tract of the red-bellied newt *Cynops pyrrhogaster*, with reference to serotonin-positive neuroepithelial endocrine cells. *Anat. Sci. Int.*, 80, 97-104.

- Okamoto T., Yamada Y., Iwanaga T., 1980. Distribution and ultrastructure of gastrin cells in the duck digestive tract. *Nippon Juigaku Zasshi*. 42, 643-649.
- Oomori Y., Okada Y., Watanabe T., 1997a. Immunohistochemical localization of serotonin, galanin, cholecystokinin and methionine-enkephalin in adrenal medullary cells of the chicken. *Tissue Cell*, 29, 199-205.
- Oomori Y., Satoh Y., Ishikawa K., Gesase AP., 1997b. Exocytosis in the antral gastrin cells of mouse, rat, and guinea pig after stimulation by carbamylcholine. *Cell Tissue Res.*, 289, 463-472.
- Park KD., Lee JH., Ku SK., Lee HS., 1999. An immunohistochemical study on the gastrointestinal endocrine cells in the bean goose, *Anser fabalis Latham*. *Korean J. Vet. Res.* 39, 1038-1048.
- Rawdon BB., 2001. Morphogenesis of gut and distribution of the progenitors of gut endocrine cells at cranial somite levels of the chick embryo. *Develop. Dynamics*, 222, 153-164.
- Rawdon BB., Andrew A., 1994. Distribution of serotonin-immunoreactive gut endocrine cells in chicks at hatching. *Histochemistry*, 102, 93-100.
- Saito T., Yamada J., Kitamura N., Yamashita T., 1989. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic pigeon, (*Columba livia var domestica*). *Z. Mikrosk. Anat. Forsc.*, 103, 237-246.
- Salvi E., Renda T., 1986. Immunohistochemical studies on the ontogenesis of some endocrine cells in the chicken antrum and duodenum. *Basic Appl. Histochem.*, 30, 307-316.
- Sikander A., Rana SV., Prasad KK., 2009. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome. *Clinica Chimica Acta*, 403, 47-55.
- Solcia E., Rindi G., Buffa R., Fiocca R., Capella C., 2000. Gastric endocrine cells: types, function and growth. *Regul. Pept.*, 93, 31-35.
- Sundler F., Håkanson R., 1991. Gastric endocrine cell typing at the light microscopic level. In: Håkanson R, Sundler F, editor. *The stomach as an endocrine organ*. Amsterdam: Elsevier, p 9-26
- Şimşek N., Alabay B., 2008. Light and electron microscopic examinations of the pancreas in quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Revue Med. Vet.*, 159, 198-206.
- Watanabe T., Chikazawa H., Chungsamarnyart N., Fujioka T., Yamada Y., 1987. Serotonin-storing cells of the chicken duodenum: light, fluorescence, electron microscopy and immunohistochemistry. *Cell Tissue Res.*, 247, 25-32.
- Wu SV., Wang YH., Campbell BJ., Dimaline R., 1992. Avian progastrin: structure, antral gene expression and biological functions during achlorhydria. *Regul. Pept.*, 40, 283.
- Yamada J., Sugitani A., Yamashita T., Misu M., 1980. Exocytotic granule release in quail gastrin cells. *Biomed. Res.*, 1, 24-27.
- Yamaguchi S., Yamada J., Kitamura N., Yamashita T., 1986. Ontogeny of the endocrine cells in the quail proventriculus. *Z. Mikrosk. Anat. Forsc.*, 100, 981-989.
- Yamaguchi S., Yamada J., Kitamura N., Yamashita T., 1987. Histological and immunohistochemical study on ontogeny of the endocrine cells in the quail gizzard. *Gegenbaurs Morpho. Jahrb.*, 133, 71-78.



Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Oksidatif Beyin ve Böbrek Hasarına Karşı Ghrelinin Koruyucu Etkisi*

Ebru ÇETİN[✉], Nazmi ÇETİN

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

Özet: Bu çalışma, sıçanlarda karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan oksidatif beyin ve böbrek hasarına karşı ghrelinin koruyucu etkisini incelemek amacıyla yapıldı. Toplam 40 adet erkek Sprague-Dawley ırkı sıçan kontrol, CCl₄, ghrel ve ghrel+CCl₄ olmak üzere dört eşit gruba ayrıldı. Son enjeksiyondan 24 saat sonra, sıçanlar sakrifiye edilerek beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı. Doku homojenatlarında malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) düzeyleri ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri ölçüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sadece CCl₄ verilen sıçanların beyin ve böbrek dokusu MDA ve NO düzeylerinde artma (p<0.05), SOD ve CAT aktivitelerinde ise azalma (p<0.05) gözlemlendi. GPx aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmedi. Öte yandan, yalnız CCl₄ verilen grupla karşılaştırıldığında, ghrel ön uygulamasının bu dokularda MDA ve NO düzeylerini önemli oranda azaltırken (p<0.05), SOD ve CAT aktivitelerini ise artırdığı tespit edildi (p<0.05). Sonuç olarak, bulgularımız ghrel ön uygulamasının sıçanlarda beyin ve böbrek dokusunda CCl₄ tarafından oluşturulan oksidatif hasarı azaltabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Ghrel, Karbon Tetraklorür, Oksidatif Hasar, Sıçan.

Protective Effect of Ghrelin against the Oxidative Brain and Kidney Injuries Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

Abstract: The present study was conducted to investigate the protective effect of ghrelin pre-treatment on carbon tetrachloride (CCl₄)- induced oxidative stress in the brain and kidney tissues of rats. Fourty male Sprague-Dawley rats were divided into four equal groups, as; control, CCl₄, ghrelin and CCl₄+ ghrelin group. The rats were sacrificed 24 h after the last injection and their brain and kidneys were removed. Malondialdehyde (MDA) and nitric oxide levels (NO), and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) enzymes were measured in brain and kidney homogenates of rats. Significantly elevated (p<0.05) mean levels of MDA and NO, and lowered (p<0.05) mean activities of SOD and CAT were observed in the brain and kidney tissues of rats treated with CCl₄ only, when compared to control group. No significant change in GPx activity was observed in the brain and kidney after the CCl₄ administration. On the other hand, ghrelin pre-treatment prior to the CCl₄ administration reduced (p<0.05) the MDA and NO levels, and increased (p<0.05) the SOD and CAT activities in these tissues as compared to those in the CCl₄-treated group. In conclusion, our findings suggest that ghrelin pre-treatment would be able to alleviate the oxidative damage caused by the CCl₄ in the brain and kidney tissues of rats.

Key words: Ghrelin, Carbon Tetrachloride, Oxidative Injury, Rat.

[✉]Ebru ÇETİN

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, e-posta: ecetin@erciyes.edu.tr

* Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi VA-06-03 No'lu BAP projesi tarafından kısmen desteklenmiştir.

GİRİŞ

Kuru temizleme, otomobil tamiri ve farmasötikal üretim gibi bazı iş alanlarında kullanılan ve vücuda solunum, sindirim ve deri yoluyla alınabilen karbon tetraklorür (CCl_4) başta karaciğer olmak üzere beyin, böbrek, kas, akciğer ve testis gibi dokulara dağılır (Abraham ve ark., 1999; Tirkey ve ark., 2005). Karbon tetraklorürün toksik etkilerinden karaciğerde biyotransformasyonu sonucu oluşan triklorometil (CCl_3) radikali sorumludur. Bu radikal daha sonra oksijen ile birleşerek triklorometil peroksil (CCl_3O_2) radikalini oluşturur. Peroksil radikali, hücrenin zar yapısını bozarak hasarın oluşmasında birincil mekanizma olarak rol oynayan güçlü bir lipid peroksidasyon başlatıcısıdır (Srinivasan ve ark., 2005). Özellikle karaciğer üzerinde hasar oluşturduğu bilinen karbon tetraklorürün yapılan deneysel çalışmalarda beyin, kalp ve böbrek gibi organlarda da oksidatif hasar oluşturduğu gösterilmiştir (Lesiuk ve ark., 2003; Karadeniz ve ark., 2007 ve 2009).

Grelın, büyüme hormonu salınımını uyaran büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R) için spesifik endojen bir ligand olarak izole edilmiş, 28 aminoasitli, peptid yapısında bir hormondur. Başlıca salınım yeri mide oksintik mukozasındaki A- benzeri hücrelerdir (Kojima ve ark., 1999). Bu hormonun mideden başka merkezi sinir sistemi, barsak, böbrekler, kalp, pankreas, akciğer, eşey organları ve plasenta gibi diğer organlarda da sentezlenmesi, onun birçok biyolojik aktivitede düzenleyici rol oynayan bir peptid olduğunu göstermektedir. (Aydın, 2007). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda grelinin antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir. Bu bağlamda; rat ovaryumlarında lipid peroksidasyon oluşumunu azaltırken antioksidan enzimleri artırdığı (Kheradmand ve ark., 2010), kalpte doksorubusin ile oluşturulan kardiyotoksitede malondialdehit (MDA) düzeyini azaltırken süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzim düzeylerini artırdığı (Xu ve ark., 2008), beyin ve böbrek dokularında pentilen-tetrazol'ün oluşturduğu oksidatif strese karşı (Obay

ve ark., 2008) koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada CCl_4 ile oluşturulan oksidatif beyin ve böbrek hasarına karşı grelinin koruyucu etkisi incelendi.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada, ağırlıkları 280-300 g arasında değişen toplam kırk adet erkek Sprague-Dawley ırkı sıçan kullanıldı. Dört gruba ayrılan sıçanlar polikarbon kafeslerde, ortalama 22 ± 2 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodu uygulanan ve düzenli olarak havalandırmanın yapıldığı bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara su ve pelet yem ad libitum olarak verildi. Çalışma başlamadan önce CCl_4 (Merck) mısır yağı ile 1:1 oranında, grelin (Sigma) ise % 0.9'luk serum fizyolojik ile sulandırılarak kullanıma hazır hale getirildi.

Kontrol grubuna 5 gün süreyle 0.9 % NaCl deri altı yolla, CCl_4 grubuna 1.6 g/kg CCl_4 (Ohta ve ark., 2000) periton içi yolla tek doz olarak, grelin grubuna 10 ng/kg grelin (İşeri ve ark., 2008) 5 gün süreyle deri altı yolla uygulandı. Grelın+ CCl_4 grubuna ise 5 gün süreyle, günde 10 ng/kg grelinin deri altı yolla verilmesini takiben, 5. günde ayrıca 1.6 g/kg CCl_4 tek doz olarak uygulandı. Son enjeksiyondan 24 saat sonra ketamin-ksilazin anestezisi altında hayvanlar sakrifiye edildikten sonra böbrek ve beyin dokuları çıkarıldı. Çıkarılan doku örnekleri pH 7.4 fosfat tamponda (1:5), buzlu ortamda mekanik homojenizatörle (Heidolph, SilentCrusher M) homojenize edildi. Homojenatlar + 4 °C'lik soğutmalı santrifüjde (Sigma 3K-30) 20 000 devirde 1 saat santrifüj edildi. Süpernatantlar alınarak analiz zamanına kadar -80 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

Doku supernatantlarında MDA analizleri, lipid peroksidasyonun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu sonucu oluşan renkli bileşik absorbanasının 535 nm'de ölçümüne dayalı spektrofotometrik (Shimadzu UV-

1700) yöntemle belirlendi (Yoshioka ve ark., 1979). Nitrik oksit düzeyi Griess reaksiyonuna dayalı total nitrit olarak ölçüldü (Tracey ve ark., 1995). Glutatyon peroksidaz aktivitesi için Paglie ve Valentine (1967)'nin yöntemi kullanıldı. Metodun prensibi NADPH aracılığı ile glutatyon redüktaz kullanılarak indirgenmiş glutatyonun oksidasyonu esasına dayanır. Katalaz aktivitesi, ortamdaki hidrojen peroksitin katalaz tarafından yıkılmasını esasına dayanan ve hidrojen peroksitin 240 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak belirlendi (Luck, 1955). Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ksantin-oksidad'ın nitroblue tetrazolium ile inhibisyonu yoluyla; inhibisyon ürünü olan formazon'un 560 nm'deki absorbanı ölçülerek belirlendi (Sun ve ark. 1988). Protein tayini Lowry ve arkadaşlarının (1951) yöntemine göre standart olarak sığır serum albümini kullanılarak saptandı.

Verilerin analizi bilgisayar istatistik paket programında (SPSS for Windows 12 Version) tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ve Tukey's çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak yapıldı. Veriler aritmetik ortalama ve standart sapma olarak verildi. Önemlilik düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarının beyin ve böbrek dokusuna ait MDA ve NO düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri Tablo 1 ve Tablo 2'de verildi. Oksidatif stres parametrelerinden MDA ve NO düzeyleri CCl_4 verilen grubun beyin ve böbrek dokularında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek ($p < 0.05$) bulundu. Karbon tetraklorür verilen grupla karşılaştırıldığında grelin ön uygulaması yapılan grupta dokuların MDA ve NO düzeylerinde önemli bir azalma ($p < 0.05$) kaydedildi.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, sadece CCl_4 uygulamasının beyin ve böbrek dokusu antioksidan enzimlerinden SOD ve CAT'ın aktivitesini azaltırken ($p < 0.05$), GPx enziminde ise istatistiksel

olarak önemli bir değişikliğe neden olmadığı ($p > 0.05$) tespit edildi. Öte yandan, grelin+ CCl_4 grubunda, beyin ve böbrek dokusu SOD ve CAT aktivitelerinin CCl_4 grubuna göre anlamlı olarak arttığı ($p < 0.05$) belirlendi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu normal metabolik faaliyetler sırasında oluşabileceği gibi diyet ve çevresel etkiler ile ilaç ve diğer ksenobiyotiklere bağlı olarak da oluşabilir. Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Lipid peroksidasyon, serbest radikaller tarafından başlatılan ve hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan bir reaksiyondur. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda MDA oluşur ki bu lipid peroksidasyonun en önemli göstergelerinden biridir (Freeman ve Crapo, 1982; Del Rio ve ark., 1995). Çalışmada CCl_4 'ün beyin ve böbrek dokusunda MDA düzeyini artırdığı gözlemlendi. MDA düzeyindeki artma CCl_4 uygulamasına bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, CCl_4 verilen sıçanların beyin ve böbrek dokularında MDA düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (Tirkey ve ark., 2005; Karadeniz ve ark., 2007 ve 2009; Jayakumar ve ark., 2008). Öte yandan, CCl_4 'den önce uygulanan grelinin MDA düzeyini düşürdüğü tespit edildi. Bu durum, grelinin antioksidan etkisiyle ilişkili olabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar bulgularımızı destekler niteliktedir. Bu bağlamda; Obay ve ark. (2008), beyin ve böbrek dokularında pentilentetrazol tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonuna karşı grelinin koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. İşeri ve ark. (2008), sıçanlarda alendronat ile oluşturulan mide doku hasarına karşı grelin uygulamasının MDA düzeyini azalttığını göstermişlerdir.

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarının beyin dokusunda MDA ve NO düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri**Table 1.** The MDA and NO levels as well as CAT, SOD and GPx activities in brain tissue in control and experimental groups

Gruplar	MDA (nmol/mg-protein)	NO (nmol/mg-protein)	SOD (U/mg-protein)	CAT (k/mg-protein)	GPx (U/mg-protein)
Kontrol	1.27± 0.51	2.23± 1.27	1.49± 0.18	20.11± 0.48	17.18± 1.68
Grelin	1.09± 0.68	2.01± 1.59	1.22± 0.22	21.50± 1.13	16.20± 2.14
CCl ₄	2.17± 0.45 ^a	3.45± 1.36 ^a	0.73± 0.12 ^a	10.72± 0.71 ^a	13.16± 2.53
Grelin + CCl ₄	1.54± 0.98 ^b	2.70± 1.19 ^b	1.36± 0.38 ^b	17.28± 1.80 ^b	15.90± 1.89

^aKontrol ve ^bCCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Tablo 2. Kontrol ve deney gruplarının böbrek dokusunda MDA ve NO düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri**Table 2.** The MDA and NO levels as well as CAT, SOD and GPx activities in kidney tissue in control and experimental groups

Gruplar	MDA (nmol/mg-protein)	NO (nmol/mg-protein)	SOD (U/mg-protein)	CAT (k/mg-protein)	GPx (U/mg-protein)
Kontrol	0.61± 0.51	3.13± 1.07	2.99± 0.15	35.31± 1.08	29.18± 1.68
Grelin	0.79± 0.31	3.21± 1.29	2.62± 0.12	29.50± 1.13	31.20± 1.14
CCl ₄	1.81± 0.75 ^a	5.41± 1.16 ^a	1.13± 0.15 ^a	19.72± 1.71 ^a	28.16± 1.53
Grelin + CCl ₄	1.21± 1.88 ^b	4.08± 1.14 ^b	2.26± 0.10 ^b	27.28± 1.80 ^b	25.90± 2.89

^aKontrol ve ^bCCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Nitrik oksit eşleşmemiş tek elektron içeren bir serbest radikaldir. Fizyolojik yoğunluklarda, nitrik oksit sentaz (iNOS) aracılığı ile endotel hücrelerinden salınır ve normalde toksik değildir. Nitrik oksit süperoksit anyon radikali ile reaksiyona girerek dokular için son derece zararlı olan peroksinitriti oluşturmaktadır. Oluşan bu madde hücre membranında lipid peroksidasyonu başlatarak hücre hasarına neden olmaktadır (Tamer ve ark., 2000; Kılınç ve Kılınç, 2003). Çalışmada CCl₄ verildikten sonra beyin ve böbrek dokularında NO düzeyinde gözlenen artma Karadeniz ve ark. (2007 ve 2009)'nın bulgularıyla uyum içindedir. Benzer şekilde, Srinavasan ve ark. (2005) CCl₄ alan sıçanların NO düzeylerinde önemli bir artma tespit etmişlerdir. CCl₄ uygulanmasından sonra dokuların NO düzeylerinde gözlenen önemli artış, oluşan serbest radikallerin hücre lipid membranlarını peroksidasyona uğrattığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Araştırmada, sadece CCl₄ verilen grupla karşılaştırıldığında, CCl₄'den önce grelin ön uygulmasının CCl₄'ün neden olduğu NO düzeyindeki artışı azalttığı tespit edildi. Nitrik oksit düzeyindeki bu azalma

grelın tarafından iNOS mRNA ekspresyonunun azaltılmasına bağlanabilir (Sibilia ve ark., 2003).

Canlı dokularda serbest radikallere karşı savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır. Süperoksit dismutaz, GPx ve CAT enzimleri serbest radikallerin birikimini ve lipid peroksidasyonun başlamasını önleyen bileşiklerdir. Süperoksit dismutaz, süperoksidin hidrojen perokside dönüşümünü katalizlerken, CAT ve GPx ise SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksidi (H₂O₂) dokulardan uzaklaştıran reaksiyonlarda görev alırlar (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Dünder ve Aslan, 2000). Bu enzimlerin aktivitesindeki azalma, hücre membranının bütünlüğünü ve fonksiyonunu bozan serbest radikal miktarındaki artmayla ilişkilidir (Freeman ve Crapo, 1982). Araştırmada, sadece CCl₄ verilen grubun beyin ve böbrek dokularında SOD ve CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalması CCl₄'ün bu dokularda H₂O₂ ve peroksinitrit oluşumunu tetiklediğini ve enzimlerin bu reaktiflerin ortamdaki uzaklaştırılması sırasında azaldığını göstermektedir. Karbon tetraklorür'ün beyin ve böbreklerde antioksidan enzimler üzerine

etkisi üzerine yapılan çalışmalarda sıçanlara verilen CCl_4 'ün beyin ve böbrek dokusunda bulgularımızla uyumlu olarak SOD ve CAT aktivitesinde önemli bir azalma kaydedilmiştir (Lesiuk ve ark., 2003; Tirkey ve ark., 2005; Karadeniz ve ark., 2007 ve 2009 Jayakumar ve ark., 2008). Benzer şekilde CCl_4 verilen sıçanların böbreklerinde gözlenen SOD ve CAT aktivitesindeki azalma (Srinivasan ve ark., 2005) bulgularımızla örtüşmektedir. Çalışmada beyin ve böbrek dokularının GPx aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmedi. CCl_4 uygulamasının GPx aktivitesi üzerine etkileri konusunda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. CCl_4 uygulanmasının beyin ve böbrek dokusunda GPx aktivitesini azalttığını bildiren çalışmaların (Jayakumar ve ark., 2008) yanı sıra beyin dokusunda GPx aktivitesini artırdığını (Lesiuk ve ark., 2003; Karadeniz ve ark., 2007) bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu farklılık CCl_4 'ün uygulama şekli veya dozuyla ilişkili olabilir.

Çalışmada elde edilen veriler grelin ön uygulamasının etkisi açısından incelendiğinde; sadece CCl_4 verilen grupla karşılaştırıldığında, grelin+ CCl_4 uygulaması yapılan grubun beyin ve böbrek dokularında SOD ve CAT aktivitelerinde önemli oranda bir artışın kaydedilmesi grelinin bu dokularda enzimatik antioksidan savunma sistemini artırdığını göstermektedir. Grelinin antioksidan özelliği ile ilgili olarak, grelinin preadipozit hücre kültürlerinde SOD, CAT ve GPx aktivitelerini (Zwirski-Korcale ve ark., 2007), sıçan ovaryumlarında SOD aktivitesini (Kheradman ve ark., 2010), kalpte doksorubusin ile oluşturulan kardiyotoksistide SOD ve CAT aktivitesini (Xu ve ark., 2008), pentilen tetrazol ile oluşturulan oksidatif streste beyinde SOD aktivitesini (Obay ve ark., 2008), metilfenilpridinyum ile oluşturulan nörotoksistite modelinde ise SOD ve CAT aktivitelerini artırdığı yönündeki veriler bulgularımızı desteklemektedir. Grelinin antioksidan özelliği Nrf2 transkripsiyon faktörünü aktive etmesinden kaynaklanabilir. Nrf2, antioksidan enzim genlerinin ekspresyonunu düzenleyen bir faktördür (Jung ve Kwak, 2010)

ve yapılan deneysel çalışmalarda karaciğer ve akciğer gibi çeşitli dokularda oksidatif hasarlara karşı antioksidan genleri düzenleyici etkisi gösterilmiştir (Chan ve ark., 2001).

Sonuç olarak, beyin ve böbrek dokularında CCl_4 tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı grelinin antioksidan savunma mekanizmasını uyararak koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abraham P., Wilfred G., Cathrine SP., 1999. Oxidative damage to the lipids and proteins of the lungs, testis and kidney of rats during carbon tetrachloride intoxication. *Clin. Chim. Acta.*, 289, 177-179.
- Aydın S., 2007. Grelinin hormonunun keşfi: Araştırmaları ve klinik uygulamaları. *Derleme. Turk. J. Biochem.*, 32, 76-89.
- Chan K., Han XD., Kan YW., 2001. An important function of Nrf2 in combating oxidative stress: detoxification of acetaminophen. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98, 4611-4616.
- Del Rio D., Stewart AJ., Pellegrini N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 15, 316-328.
- Dundar Y., Aslan R., 2000. Hekimlikte oksidatif stress ve antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniv. Yayınları*, Y.N: 29, Uyum Ajans, Ankara.
- Freeman BA., Crapo JD., 1982. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, 47, 412-426.
- Halliwell B., Gutteridge, JMC., 1989. *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press, Oxford.
- Işeri SO., Sener G., Sağlam B., Ercan F., Gedik N., Yegen BC., 2008. Ghrelin alleviates biliary obstruction induced chronic hepatic injury in rats. *Regul. Pept.*, 146, 73-79.
- Jayakumar T, Sakthivel M, Thomas PA, Geraldine P., 2008. *Pleurotus ostreatus*, an oyster mushroom, decreases the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rat kidneys, heart and brain. *Chem. Biol. Interact.*, 176, 108-120.

- Jung K., Kwak M., 2010. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants. *Molecules*, 15, 7266-7291.
- Karadeniz A., Yıldırım A., Çelebi F., 2007. Protective effect of Panax ginseng against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative brain injury in rats. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 2, 117-121.
- Karadeniz A., Yıldırım A., Karakoç A., Kalkan Y., Çelebi F., 2009. Protective effect of Panax ginseng on carbon tetrachloride induced liver, heart and kidney injury in rats. *Revue Med. Vet.*, 160, 237-243.
- Kılınc A., Kılınc K., 2003. Nitrik oksit, biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Kheradmand A., Alirezaei M., Birjandi M., 2010. Ghrelin promotes antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in the rat ovary. *Regul Pept.*, 162, 84-89.
- Kojima M., Hosoda H., Date Y., 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402, 656-660.
- Lesiuk SS., Czechowska G., Stryjecka-Zimmer M., Słomka M., Madro A., Celinski K., Wielosz M., 2003. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication, *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.*, 10, 309-315.
- Lowry OH., Rosebrough NJ., Farr AL., Randall RJ., 1951. Protein measurement with Foline phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- Luck H., 1955. Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Ed. HU Bergmeyer, Academy Press, New York.
- Obay BD., Tasdemir E., Tümer C., Bilgin HM., Atmaca M., 2008. Dose dependent effects of ghrelin on pentylene tetrazole induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides*, 29, 448-455.
- Ohta Y., Kongo M., Sasaki E., Nishida K., Ishiguro I., 2000. Therapeutic effect of melatonin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *J. Pineal Res.*, 2, 119-126.
- Paglie DE., Valentine WN., 1967. Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Med.*, 70, 158-169.
- Sibilia V., Rindi G., Pagani F., Rapetti D., Locatelli V., Torsello A., Campanini N., Deghenghi R., Netti C., 2003. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*, 144, 353-359.
- Srinivasan M., Rukkumani A., Sudheer R., Menon VP., 2005. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride induced toxicity. *Fundament. Clin. Pharmacol.*, 19, 491-496.
- Sun Y., Oberley LW., Li YAA., 1988. Simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.*, 34, 497-500.
- Tirkey N., Pilkhwal S., Kuhad A., Chopra K., 2005. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbontetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol.*, 5, 2.
- Tamer I., Polat G., Eskandari G., Ercan B., Atik U., 2000. Serbest Radikaller, Mersin Üniv. Tıp Fak. Derg., 1, 52-58.
- Tracey WR., Tse J., Carter G., 1995. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 272, 1011-1015.
- Xu Z., Lin S., Wu W., Tan H., Wang Z., Cheng C., Lu L., Zhang X., 2008. Ghrelin prevents doxorubicin induced cardiotoxicity through TNF- α /NF- κ B pathways and mitochondrial protective mechanisms. *Toxicology*, 247, 133-138.
- Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135, 372-376.
- Zwirska-Korczała K., Adamczyk-Sowa M., Sowa P., Pilc K., Suchanek R., Pierzchała K., Namysłowski G., Misiolek M., Sadowski K., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R., 2007. Role of leptin, ghrelin, angiotensin II and orexins in 3T3 L1 preadipocyte cells proliferation and oxidative metabolism. *J. Physiol. Pharmacol.*, 58, 53-64.



Hiperisin'in İzole Edilmiş Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi *

Ahmet TOPAL[✉], Fikret ÇELEBİ

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

Özet: *Hypericum perforatum* total ekstraktının antiinflamatuar, antidepresan, antiülserojenik gibi biyolojik etkiye sahip olduğu ve mide hareketlerini ve mide asit salgısını azalttığı rapor edilmiştir. *Hypericum perforatum*'dan ekstrakte edilen ve doğal bir pigment olan hiperisin'in de antidepresan bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bunlarla birlikte, mide asit salgısı üzerine *Hypericum perforatum*'u oluşturan bileşenlerden hangisinin etkili olduğu tam aydınlatılamamıştır. Sunulan çalışmada, *Hypericum perforatum*'un bir bileşeni olan hiperisinin sıçan midesinde, *in vitro* mide asit sekresyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. İzole organ banyosunda gerçekleştirilen deneylerde histamin, betanechol ve pentagastrin ile ayrı ayrı uyarılmış mide asit salgısı üzerine hiperisinin dört farklı dozunun ($10^{-7}M$, $10^{-6}M$, $10^{-5}M$, $10^{-4}M$) etkileri incelendi. Bazal pH elde edildikten sonra, hiperisinin mide asit salgısında meydana getirdiği değişikliklere göre Δ pH değerleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar, farklı hiperisin dozlarının histamin, bethanechol ve pentagastrin ile uyarılan mide asit sekresyonunu etkilemediğini gösterdi ($p>0.05$). Sonuç olarak, hiperisinin sıçan midesinde *in vitro* asit sekresyonu üzerinde herhangi bir etkisi görülmedi.

Anahtar kelimeler: Hiperisin, Mide Asit Sekresyonu, Sıçan.

Effects of Hypericin on Gastric Acid Secretion in Isolated Rat Stomach

Abstract: It has been reported that the total extract of *Hypericum perforatum* has biological effect such as antiinflammatory, antidepressant, antiulcerogenic and it has reduced the stomach movements and gastric acid secretion. It is known that hypericin, the natural pigment, which is extracted from Kantaron, has an antidepressant effect. However, it has not been just clarified that which component composed *Hypericum perforatum* is effective on gastric acid secretion. In the present study, the effect of hypericin, one of the components of *Hypericum perforatum*, on gastric acid secretion were investigated *in vitro* in the stomach isolated from rats. The effects of four different doses ($10^{-7}M$, $10^{-6}M$, $10^{-5}M$, $10^{-4}M$) of hypericin were investigated on gastric acid secretion stimulated by histamine, bethanechol and pentagastrin. After basal pH was obtained, Δ pH value was determined according to the changes in gastric acid secretion caused by hypericin. The results showed that different hypericin doses did not affect gastric acid secretion stimulated by histamine, bethanechol, pentagastrin ($p>0.05$). As consequence, there was no effect of hypericin on *in vitro* acid secretion in isolated rat stomach.

Key words: Hypericin, Gastric Acid Secretion, Rat.

[✉]Ahmet TOPAL

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, e-posta: drahmertopal@hotmail.com

* Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminin 2009/295 Nolu projesiyle desteklenen "Bazı Kantaron Bileşiklerinin Mide Üzerine Etkileri" isimli doktora tezinin bir bölümünden hazırlanmıştır.

GİRİŞ

Hypericum perforatum'un karakteristik bileşiklerinden en önemlisi hiperisindir. Kırmızı renkli bir pigment olan hiperisin, kantaron yağına da kırmızı rengini veren bileşiktir (Hostettmann ve ark., 2005). Bitkideki hiperisin miktarı yetiştirme şartları, ekstraktın kuru ya da yaş olarak hazırlanması ve bitkinin kullanılan kısımlarına bağlı olarak değişir (Elgin ve ark., 2000) Daha önce yapılan çalışmalarda tüm bitkideki hiperisin oranları Avrupa'da % 0.05-0.3, Amerika'da % 0.04-0.19, Avustralya'da % 0.004-0.215 ve Türkiye'de % 0.205 olarak bulunmuştur (Southwell ve Campbell, 1991). Avrupa ve Amerika Birleşik Devletlerinde hiperisin içeren preparatlar hekimlerce sıklıkla depresyon hastalarına önerilmekte ve değişik tipteki depresyonun tedavisinde güvenle kullanılmaktadır (Walker ve ark., 2001). Kantaronun önemli bileşiklerinden olan hiperisinin, antidepresan aktivitesini *in vitro* yapılan çalışmalarda monoamin oksidaz (MAO) inhibisyonu yoluyla gösterdiği rapor edilmiştir (Suzuki ve ark., 1984). Ayrıca, tavşanlar üzerinde yapılan toksisite deneylerinde, post-mortem karaciğer ağırlıklarının arttığı, öte yandan karaciğer üzerinde hiçbir toksik etkisinin görülmediği belirlenmiştir (Aydın, 1990).

Kantaron ve bileşiklerinin mide üzerine etkileri yaygın bir şekilde araştırılmakla beraber, mide asit salgısı üzerine etkisi konusunda fazla literatür bilgisi bulunmamaktadır. Sunulan çalışmada, kantaronun bir bileşeni olan hiperisinin *in vitro* sıçan midesinde, mide asit sekresyonu üzerine etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Sıçan Midesinin İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması

Çalışmada, yaklaşık 220 gr ağırlığında, 8 haftalık Sprague-Dawley cinsi erişkin 24 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneye başlamadan 24 saat önce sıçanlar aç bırakıldı ancak su içmelerine müsaade edildi. Eter ile sedasyon sağlandı. Hayvanlar servikal dislokasyonla öldürülüp, orta hattan karın boşluğu

açıldı ve mide çıkarılarak içinde serozal solüsyon (mM: NaCl 118, KCl 4.8, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.14, Na₂HPO₄ 15.9, CaCl₂ 0.65, glucose 31.6) bulunan petri kabına alındı ve çevresindeki bağ dokular temizlendi. Midenin içi mukozal solüsyon (mM: NaCl 135, KCl 4.8, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 1.3, glikoz 31.6) ile yıkandı. Ardından, 2mm çapında 2 adet plastik kanül, pilorus ve özefagus kısmına bağlandı (Komasaka ve ark., 2002). Daha sonra mide, içerisinde serozal solüsyonun bulunduğu 20 ml'lik organ banyosuna alındı. Serozal solüsyonun pH'sı daha önce NaOH ile 7.00 olacak şekilde ayarlandı. Midenin bulunduğu ortamın ısısı denemeler süresince 37 °C'de sabit tutuldu. Ayrıca ortam yine % 95 O₂ ve % 5 CO₂ oranında gaz karışımı olan gaz ile gazlandırıldı (Topal ve Çelebi., 2011).

Mide Salgısının Elde Edilmesi ve pH'nın Ölçülmesi

Mide, özefagal kanülden pilorik kanüle doğru dakikada 1 ml mukozal solüsyon ile peristaltik pompa (Kendal Kangaroo™ 924) yardımıyla perfüze edildi. Mukozal solüsyonun pH'sı daha önce HCl asit ile 5.00 olacak şekilde ayarlandı. Bu süreçle beraber Tablo 1'de gösterildiği gibi hiperisinin belirlenen dozları (10⁻⁷M, 10⁻⁶M, 10⁻⁵M ve 10⁻⁴M) agonist ve antagonistlerle birlikte ortama ilave edilerek mide salgısıyla beraber elde edilen mide sıvısının pH'sı (1131 Hanna Instruments model) belirlenerek Δ pH'lar hesaplandı. ΔpH deneylerden elde edilen pH değerleri ile bazal pH değerleri arasındaki farkı ifade etmektedir (Topal ve Çelebi., 2011).

$$\Delta pH = \bar{X}_{pH1} - \bar{X}_{pH0}$$

\bar{X}_{pH1} = deneylerden elde edilen ortalama pH değeri

\bar{X}_{pH0} = ortalama bazal pH değeri

Çalışmada, mideye uygulanan kimyasal maddeler (hiperisin, agonist ve antagonistler) organ banyosu içerisine serozal tarafa ilave edildi. Mide asit salgısını parakrin yoldan uyarmak için histamin (10⁻⁴M), hormonal yoldan uyarmak için pentagastrin

(10^{-6} M), nöronal yoldan uyarmak için ise betanekol (10^{-5} M) kullanıldı. Parakrin yolun antagonisti olarak famotidin (10^{-5} M), hormonal yolun antagonist olarak proglumid (10^{-5} M), nöronal yolun antagonist olarak atropin (10^{-6} M) kullanıldı

Kimyasallar; Hiperisin (56690, SigmaTM, USA) final konsantrasyonları 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M ve 10^{-4} M dozları dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözdürüldü. Histamin 2HCl (H7250, SigmaTM, USA); H_2 reseptör agonisti olan histamin'in final konsantrasyonu 10^{-4} M olacak şekilde distile suda çözdürüldü. Famotidin (F6889, SigmaTM, USA); H_2 reseptör antagonisti olan famotidin final konsantrasyonu 10^{-5} M olacak şekilde 0.1 N HCl de çözdürüldü. Pentagastrin (C5259, SigmaTM, USA); kolesistokinin (CCK_2) reseptör agonisti olan pentagastrinin final konsantrasyonu 10^{-6} M olacak şekilde DMSO'da çözdürüldü. Proglumide (M006, SigmaTM, USA);

CCK_2 reseptör antagonisti olan proglumid'nin final konsantrasyonu 10^{-5} M olacak şekilde distile suda çözdürüldü. Betanekol (B1636, SigmaTM, USA); muskarinik asetilkolin reseptör agonisti olan betanekolün final konsantrasyonu 10^{-5} M olacak şekilde distile suda çözdürüldü. Atropin (A0132, SigmaTM, USA); muskarinik asetilkolin reseptör antagonisti olan atropinin final konsantrasyonu 10^{-6} M olacak şekilde distile suda çözdürüldü (Hahne ve ark., 1981; Komasa ve ark., 2002; Capasso ve ark., 2008).

İstatistik

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri özel bir istatistik programı olan SPSS 17 programı kullanılarak yapıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde One Way ANOVA da Tukey testi kullanıldı. $P < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

Tablo 1. Deneysel protokol ve pH ölçümü

Table 1. Experimental protocol and measurement of pH

Zaman	Prosedür	Reaksiyon	Test Döğüsü
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü.
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5dk)	
2 dk	Mide içi infüzyonu	2ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü.
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5dk)	
2 dk	Mide içi infüzyonu	2ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü (Bazal Ph)
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5dk)	
2 dk	Mide içi infüzyonu	2ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü.
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5dk)	
2 dk	Mide içi infüzyonu	2ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü.
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5dk)	
2 dk	Mide içi infüzyonu	2ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	

	İlaç uygulaması	Histamin+Proglumid+Atropin ile beraber serozal tarafa ilgili etken madde ilave edildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü.
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5dk)	
2 dk	Mide içi infüzyonu	2ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Histamin+Famotidin+Proglumid+Atropin serozal tarafa ilave edildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü.
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5dk)	
2 min	Mide içi infüzyonu	2ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Histamin+ Famotidin+Proglumid +Atropin ile beraber ilgili etken madde serozal tarafa ilave edildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü.

* Aynı protokol pentagastrin ve bethanechol için de uygulandı

BULGULAR

Hiperisinin Bazal Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi

Hiperisinin izole edilmiş sıçan midesinde, $10^{-7}M$, $10^{-6}M$, $10^{-5}M$, $10^{-4}M$ dozlarının bazal mide asit sekresyonu üzerine etkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0.05$, Şekil 1).

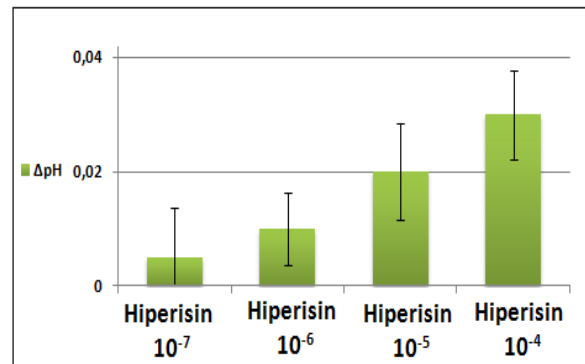
Hiperisinin Histamin ile Uyarılmış Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi

Histaminin $10^{-4}M$ dozu, proglumid ve atropin varlığında mide asit sekresyonunda bir artışa neden oldu ($P < 0.05$). Histaminle uyarılmış mide asit sekresyonu, hiperisinin $10^{-7}M$, $10^{-6}M$, $10^{-5}M$, $10^{-4}M$ dozları ile değişmedi ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$, Şekil 2A). Ayrıca, proglumid, atropin ve famotidin varlığında histamin ile uyarılmış mide asit sekresyonu üzerine hiperisinin etkisine bakıldığında yine gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0.05$, Şekil 2B).

Hiperisinin Bethanechol ile Uyarılmış Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi

Betanekolün $10^{-5}M$ dozu, proglumid ve famotidin varlığında mide asit sekresyonunda bir artışa neden

oldu ($P < 0.05$). Betanekol ile uyarılmış mide asit sekresyonu, hiperisinin hiçbir dozu ile değişmedi ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$, Şekil 3A) Ayrıca proglumid, atropin ve famotidin varlığında betanekol ile uyarılmış mide asit sekresyonu üzerine hiperisinin etkisine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0.05$, Şekil 3B)

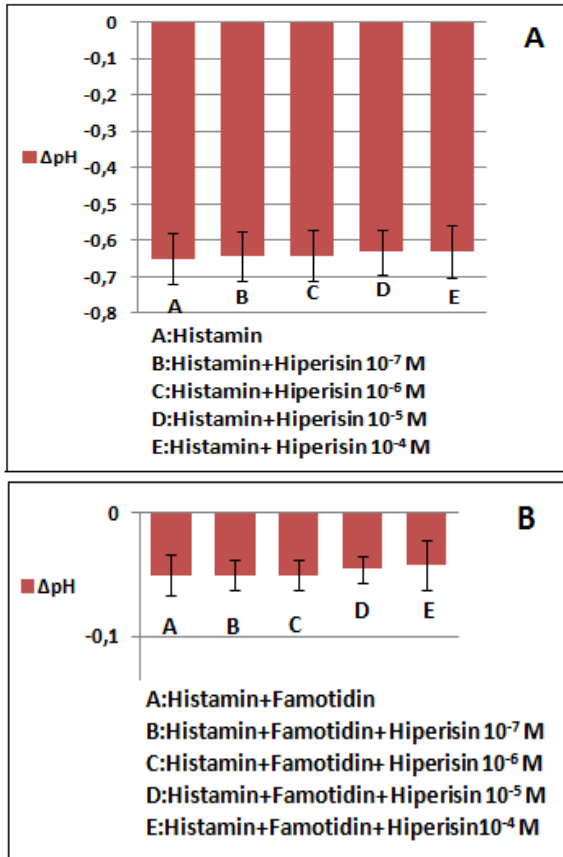


Şekil 1. İzole edilmiş sıçan midesinde bazal asit sekresyonu üzerine hiperisinin etkisi (n=4, ort±SEM, $P > 0.05$).

Figure 1. Effect of hypericin on basal acid secretion in isolated rat stomach (n=4, mean±SEM $P > 0.05$).

Hiperisin'in Pentagastrin ile Uyarılmış Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi

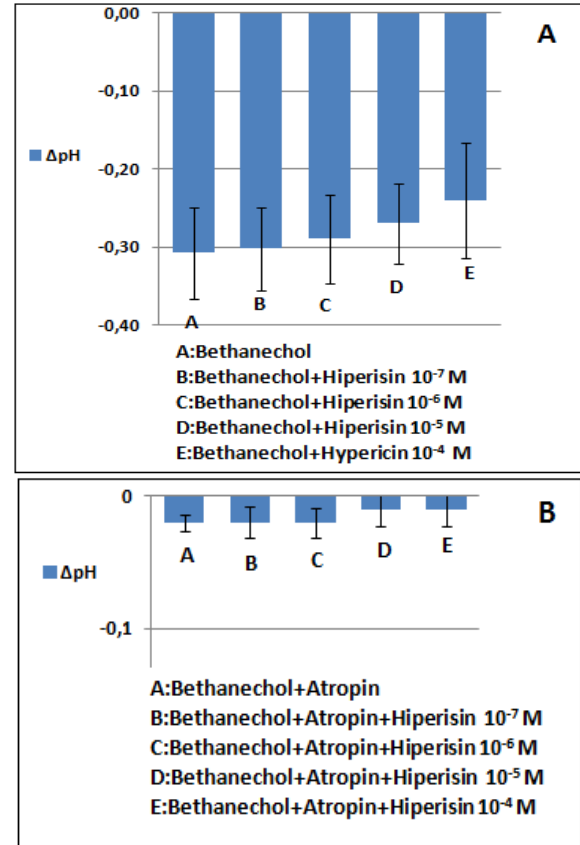
Pentagastrinin 10^{-6} M dozu, atropin ve famotidin varlığında mide asit sekresyonunda bir artışa neden oldu ($P < 0.05$). Pentagastrin ile uyarılmış mide asit sekresyonu, hiperisin'in hiçbir dozu ile değişmedi ve



Şekil 2A. İzole edilmiş sıçan midesinde proglumide ve atropine varlığında histamin ile uyarılmış gastrik asit sekresyonu üzerine hiperisin'in etkisi ($n=4$, $\text{ort} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$). **B.** İzole edilmiş sıçan midesinde proglumide, atropine ve famotidine varlığında histamin ile uyarılmış gastrik asit sekresyonu üzerine hiperisin'in etkisi ($n=4$, $\text{ort} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$).

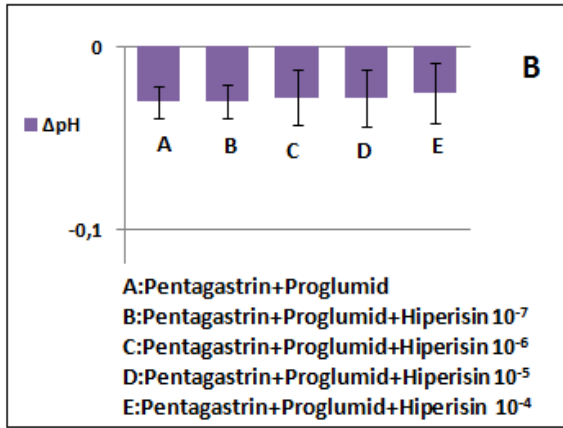
Figure 2A. Effect of hypericin on histamine-induced acid secretion in isolated rat stomach in the presence proglumide and atropine ($n=4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$). **B.** Effect of hypericin on histamine-induced acid secretion in isolated rat stomach in the presence proglumide, atropine and famotidine ($n=4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$).

istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$, Şekil 4A). Ayrıca proglumid, atropin ve famotidin varlığında pentagastrin ile uyarılmış mide asit sekresyonu üzerine hiperisin'in etkisine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0.05$, Şekil 4B).



Şekil 3A. İzole edilmiş sıçan midesinde famotidine ve proglumide varlığında bethanechol ile uyarılmış gastrik asit sekresyonu üzerine hiperisin'in etkisi ($n=4$, $\text{ort} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$). **B.** İzole edilmiş sıçan midesinde famotidine, proglumide ve atropine varlığında bethanechol ile uyarılmış gastrik asit sekresyonu üzerine hiperisin'in etkisi ($n=4$, $\text{ort} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$).

Figure 3A. Effect of hypericin on bethanechol-induced acid secretion in isolated rat stomach in the presence famotidine and proglumide ($n=4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$). **B.** Effect of hypericin on bethanechol-induced acid secretion in isolated rat stomach in the presence famotidine, proglumide and atropine ($n=4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, $P > 0.05$).



Şekil 4A. İzole edilmiş sıçan midesinde famotidine ve atropine varlığında pentagastrin ile uyarılmış gastrik asit sekresyonu üzerine hiperisin'in etkisi (n=4, ort±SEM, P>0.05). **B.** İzole edilmiş sıçan midesinde famotidine, proglumide ve atropine varlığında pentagastrin ile uyarılmış gastrik asit sekresyonu üzerine hiperisin'in etkisi (n=4, ort±SEM, P>0.05).

Figure 4A. Effect of hypericin on pentagastrin-induced acid secretion in isolated rat stomach in the presence famotidine and atropine (n=4, mean±SEM, P>0.05). **B.** Effect of hypericin on pentagastrin-induced acid secretion in isolated rat stomach in the presence famotidine, proglumide and atropine (n=4, mean±SEM, P>0.05).

TARTIŞMA

Antioksidan, antiinflammatuar, anti-ülserojenik ve antidepresan rollerinden dolayı kantaron ve bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kantaronun çeşitli biyolojik etkilere sahip kimyasal bileşikler içerdiği rapor edilmiştir. Bunlar arasında en önemli olanları kaempferol, quersitrin, rutin ve hiperisindir (Hölzl ve Ostrowski, 1987). Kantaronun gastrointestinal fonksiyonlar üzerine birçok etkisi olduğu bildirilmektedir (Capasso ve ark., 2008). Kantaron ekstraktının mide duvarındaki düz kas hücrelerinde bulunan Ca⁺² kanallarını etkileyerek mide motilitesini azalttığı ve bu azalmaya bağlı olarak gastrik boşalmayı yavaşlattığı bildirilmiş, fakat aynı bitkide bulunan hiperisin'in fazla etkili olmadığı rapor edilmiştir (Mennini ve Gobbi., 2004; Capasso

ve ark., 2008). Abdel-Salam yaptığı çalışmada pilorusu bağlanmış ratlarda kantaron ekstraktının mide asit sekresyonunu azalttığını rapor etmiştir (Abdel-Salam OM., 2005). Fakat söz konusu araştırmacının yapmış olduğu bu çalışmada kantaron ve içerisinde bulunan birçok etken maddenin hangisi ya da hangilerinin mide asit sekresyonunu hangi yol ya da yollar üzerinden etkilediği gösterilmemiştir. Yapılan çalışmada, kantaronun önemli bileşiklerinden olan hiperisin'in, izole edilmiş sıçan midesinde histamin, betanekol ve pentagastrin ile uyarılmış mide asit sekresyonu üzerine farklı dozlarının etkileri ayrı ayrı incelendi. Mide asit salgısına neden olan bilinen mekanizmalar üzerine, hiperisin'in muhtemel etkileri ve bu etkilerin hangi yollar üzerinden meydana getirildiği aydınlatılmaya çalışıldı.

Histamin midenin mukozal yüzeyinde bulunan enterokromaffin (ECL) hücreleri tarafından salgılanır ve parietal hücreler üzerinde bulunan H₂ reseptörlerine bağlanarak adenilat siklazın aktivasyonuna neden olur. Buna bağlı olarak cAMP oluşumu artar (Chew ve ark., 1980; Soll, 1980). Artan cAMP, H⁺, K⁺-ATP az'ın (proton pompası) aktivasyonuna neden olur (Prinz, 1993). Bu araştırmada, izole organ banyosunda, sıçan midesinde histamin ile uyarılmış mide asit salgısı üzerine hiperisin'in etkisi incelendi. Bu etki incelenirken, mide asit salgısına sebep olan nöronal ve hormonal mekanizmalar kendi antagonistleri ile bloke edildi. Deney bulgularımızda, hiperisin'in histamin ile uyarılmış mide asit salgısı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmediği, bu nedenle parietal hücreleri üzerinde bulunan H₂ reseptörleri üzerinde muhtemel bir etkiye sahip olmadığı düşünülmektedir. Ayrıca, histamin ile uyarılmış mide asit sekresyonuna hiperisin'in etkisi bütün antagonistlerin varlığında da incelendi. Parakrin, nöronal ve hormonal yollar kendi antagonistleri ile bloke edildikten sonra histamin ile uyarılmış mide asit sekresyonuna karşı hiperisin'in oluşturduğu cevaplarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bu yüzden histamin ile uyarılmış mide asit

sekresyonunda hiperisinin, intraselüler ve H⁺, K⁺-ATP az gibi mekanizmalar üzerinde bir etki oluşturarak mide asit sekresyonunda bir değişikliğe neden olmadığı düşünülmektedir.

Kolinerjik reseptör agonisti olan betanekol, parietal hücreler üzerinde bulunan tip 3 muskarinik reseptörlerine (M₃) bağlanarak asit salgısını uyarır. Diğer taraftan kolinerjik reseptör agonistleri, enterokromaffin hücrelerinde bulunan M₃ muskarinik reseptörlerini de uyararak histamin salınımına neden olabileceğini rapor etmiştir (Kajimura ve ark., 1992; Bitziou ve ark., 2008). İzole organ banyosunda, sıçan midesinde betanekol ile uyarılmış mide asit salgısı üzerine hiperisinin etkisi incelenirken, mide asit salgısına sebep olan hormonal ve parakrin mekanizmalar kendi antagonistleri ile bloke edildi. Deney sonuçlarımızda, hiperisinin betanekol ile uyarılmış mide asit salgısı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmedi. Bu yüzden hiperisinin parietal ve ECL hücreleri üzerinde bulunan M₃ muskarinik reseptörleri üzerinde muhtemel bir etkiye sahip olmadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda pentagastrin, mide asit sekresyonunu hormonal uyarıcı olarak kullanıldı. Pentagastrin, gastrin hormonuna benzer bir pentapeptiddir. Parietal ve enterokromaffin hücreleri üzerinde bulunan CCK₂ reseptörleri aracılığıyla etkisini gösterir (Hirsch ve ark., 2003; Gower ve ark., 2003). Gastrin veya pentagastrin, mide asit sekresyonunu 2 yoldan uyarır. Birincisi, parietal hücrelerin üzerinde bulunan CCK₂ reseptörleri üzerine direkt bir etkiyle, ikincisi ise enterokromaffin hücreleri üzerinde bulunan CCK₂ reseptörlerini etkileyerek histamin salınımına neden olarak. Salınan histamin daha sonra, parietal hücrelerin üzerinde bulunan H₂ reseptörlerine bağlanarak asit salgısını uyarır (Hirsch ve ark., 2003). İzole organ banyosunda, *in vitro* ortamda, sıçan midesinde pentagastrin ile uyarılmış mide asit salgısı üzerine hiperisinin etkisini incelenirken, mide asit salgısına sebep olan nöronal ve parakrin mekaniz-

malar kendi antagonistleri ile bloke edildi. Deney sonuçlarımızda, hiperisinin pentagastrin (hormonal yol) ile uyarılmış mide asit salgısı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmedi. Bu nedenle parietal ve ECL hücreleri üzerinde bulunan CCK₂ reseptörleri üzerinde muhtemel bir etkiye sahip olmadığı düşünülmektedir.

Abdel-Salam yaptığı çalışmada pilorusu bağlanmış sıçanlarda kantaron ekstraktının mide asit sekresyonunu azalttığını rapor etmiştir. Fakat kantaron ve içerisinde bulunan birçok etken maddenin mide asit sekresyonunu hangi yol ya da yollar üzerinden etkilediği gösterilmemiştir. Yapılan başka bir çalışmada, kantaron ve birçok bitkide bulunan rutin pilorusu bağlanmış sıçanlarda mide asit sekresyonunu azalttığı bildirilmiştir (Shin YK ve ark., 2002). Bu araştırmada ise, *in vitro* şartlarda, izole edilmiş sıçan midesinde, hiperisinin mide asit sekresyonu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmedi.

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışmada, hiperisinin histamin, betanekol ve pentagastrin ile uyarılmış mide asit sekresyonu üzerine herhangi bir etkisi görülmedi.

KAYNAKLAR

- Abdel-Salam OM., 2005. Anti-inflammatory, antinociceptive, and gastric effects of *Hypericum perforatum* in rats. *Sci. World J.*, 5, 586–595.
- Aydın S., 1990. *Hypericum perforatum*'un hepatoprotektif etkileri. *Anadolu Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi*, Eskişehir.
- Bitziou E., Hare DO., Patel BA., 2008. Simultaneous detection of pH changes and histamine release from oxyntic glands in isolated stomach. *Anal. Chem.*, 80, 8733–8740.
- Capasso R., Borrelli F., Aviello G., Capasso F., Angelo A. Izzo., 2008. Inhibitory effect of the herbal antidepressant *St. John's wort* (*Hypericum perforatum*) on rat gastric motility. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 376,407–414.

- Chew CS., Hersey SJ., Sachs G., Berglindh T., 1980. Histamine responsiveness of isolated gastric glands. *Am. J. Physiol.*, 238, 312-320.
- Elgin GE., İnce İ., Ertaş H., 2000. H.perforatum, H. Triquetrifolium, H. Empetrifolium bitkilerinde hypericin miktarının YBSK metodu ile tayini. XIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri, İstanbul, 167-171.
- Gower WR., Premaratne S., McCuen RW., Arimura A., McAfee Q., Schubert ML., 2003. Gastric atrial natriuretic peptide regulates endocrine secretion in antrum and fundus of human and rat stomach. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 284, 638-645.
- Hahne WF., Jensen RT., Lemp GF., Gardner JD., 1981. Proglumide and benzotript: Members of a different class of cholecystokinin receptor antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. Cell Biology.*, 78, 6304-6308.
- Hirsch AB., McCuen RW., Arimura A., Schubert ML., 2003. Adrenomedulin stimulates somatostatin and thus inhibits histamine and acid secretion in the fundus of the stomach. *Regul. Pept.*, 110, 189-195.
- Hostettmann K., Wolfender JL., *Phytochemistry.*, 2005. In: "St. John's wort and its active principles in depression and anxiety" (Müller WE, Ed.). Birkhauser Verlag, Germany.
- Hözl J., Ostrowski E., 1987. Johanniskraut (Hypericum perforatum L.) HPLC analyse der wichtigen inhaltsstoffe und deren varibialitat in einer population. *Deutsch. Apoth. Ztg.*, 23, 1227-1230.
- Kajimura M., Reuben MA., Sachs G., 1992. The muscarinic receptor gene expressed in rabbit parietal cells is the m3 subtype. *Gastroenterology*, 103, 870-875.
- Komasaka M., Horie S., Watanabe K., Murayama T., 2002. Antisecretory effect of somatostatin on gastric acid via inhibition of histamine release in isolated mouse stomach. *Eur. J. Pharmacol.*, 452, 235-243.
- Mennini T., Gobbi M., 2004. The antidepressant mechanism of Hypericum perforatum. *Life Sci.*, 75, 1021-1027.
- Prinz C., Kajimura M., Scott DR., Mercier F., Helander HF., Sachs G., 1993. Histamine secretion from rat enterochromaffinlike cells. *Gastroenterology*, 105, 449-461.
- Shin YK., Sohn UD., Choi MS., Kum C., Sim SS., Lee MY., 2002. Effects of rutin and harmaline on rat reflux oesophagitis. *Auton. Autacoid Pharmacol.*, 22, 47-55.
- Soll AH., 1980. Potentiating interactions of gastric stimulants on (14C)-aminopyrine accumulation by isolated canine parietal cells. *Gastroenterology*, 83, 216-223.
- Southwell IA., Campbell MH., 1991. Hypericin content variation in Hypericum perforatum in Australia. *Phytochemistry*, 30, 475-478.
- Suzuki O., Katsumata Y., Oya M., Bladt S., 1984. Wagner H. Inhibition of monoamine oxydase by hypericin. *Planta. Med.*, 50, 272-274.
- Topal A., Çelebi F., 2011. Effects of *Nigella sativa* aqueous extracts on gastric acid secretion in isolated rat stomach. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 17, 531-536.
- Walker L., Sirvent T., Gibson D., Vance N., 2001. Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among hypericum perforatum plants in the Northwestern United States. *Canadian J. Botany.*, 79, 1248-1255.



Yetiştirici Koşullarındaki Yerli Türk Kazlarının Büyüme, Kesim ve Karkas Özellikleri

Muammer TİLKİ¹✉, Birol GÜL², Mehmet SARI¹, Kadir ÖNK³, Serpil IŞIK¹

1. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Kars.

2. Tarım İl Müdürlüğü, Ordu.

3. Kafkas Üniversitesi, Kars Meslek Yüksek Okulu, Kars.

Özet: Bu araştırma, yetiştirici koşullarındaki yerli Türk kazlarının büyüme özellikleri ile bazı kesim ve karkas özelliklerini belirlemek amacıyla yapıldı. Araştırma, Kars'ın Arpaçay ilçesi Okçuoğlu köyünde yürütüldü. Araştırmanın büyüme aşamasındaki toplam 111 adet, kesim ve karkas özelliklerini belirlemek için ise toplam 39 adet kaz kullanıldı. Kazlar, kanat numarası takılarak iki haftada bir tartıldı. Haftalık canlı ağırlıklar bakımından cinsiyetler arasında 8. hafta ve takip eden haftalarda erkek kazların dişi kazlardan daha ağır olduğu belirlendi ($P<0.05-0.001$). Kazlar, yaklaşık 25 haftalık yaşta canlı ağırlıkları alındıktan sonra kesildi. Cinsiyetlere göre kesim, sıcak karkas, ayak, kalp, bağırsak ve iç+abdominal yağ ağırlıkları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlendi ($P<0.05-0.01$). Araştırma sonucunda, yetiştirici koşullarında ekstansif olarak yetiştirilen kazların büyüme, kesim ve karkas özelliklerinin, entansif yetiştiricilik yapılan birçok araştırma sonucu ile benzer olduğu, hatta bazılarında daha iyi olduğu görüldü. Ayrıca, çalışmada yetiştirici koşullarında ekstansif şartlarda yetiştirilen yerli kazların besisinin, 18-22 haftalık yaşa kadar uygun olacağı sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Büyüme, Karkas Özellikleri, Kaz, Kesim.

Growth, Slaughter and Carcass Traits of Native Turkish Geese Reared under the Country-side Conditions

Abstract: In this study, growth, slaughter and carcass traits of native Turkish geese reared under breeder conditions in Okçuoğlu village, Arpaçay, Kars were studied. Totally, 111 goslings were used in the growth experiment while 39 geese were used for slaughter and carcass traits. Birds with wing-tags were individually weighed fortnightly. There was statistical significance between the genders in terms of 8-24 weekly body weights ($P<0.05-0.001$). Effect of gender on the weights of slaughter, hot carcass, foot, heart, intestinal and abdominal + intestinal fat were statistically significant ($P<0.05-0.01$). At the end of the study, it was observed that the results gathered from geese bred in extensive system under the rural conditions were nearly similar to those obtained from the intensive system. In some cases, the former system yielded even superior results than those of the intensive one. Conclusively, furthermore, breeding the native Turkish geese in extensive system under the rural conditions was appropriate by the age of 18-22 wks.

Key words: Growth, Carcass Traits, Geese, Slaughter.

✉ Muammer TİLKİ

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Kars, e-posta: mtilki@hotmail.com

GİRİŞ

Kaz yetiştiriciliği Türkiye’de kanatlı hayvan yetiştiriciliği içerisinde son sıralarda yer almakta olup çok fazla bilinmemektedir. Kaz ürünlerine ülke genelinde ciddi talep olmaması, olan talebin de belirli bölgelerle sınırlı kalması bu durumun bir sebebi olarak gösterilebilir. Diğer nedenler arasında, Türkiye’de yetiştirilen kazların yumurta veriminin az olması, bazen döllü yumurta elde edilmesinde sıkıntı yaşanması, kuluçkada bazı problemlerin yaşanması ve kazlar üzerinde yapılan bilimsel araştırmaların kısıtlı olması sayılabilir.

Her ne kadar sektörü aktive edecek yoğun talep olmasa da, Türkiye’de kaz yetiştiriciliğine her bölgede rastlamak mümkündür. Bölgesel olarak en yaygın Kuzey Doğu Anadolu, Orta Anadolu, Güney Anadolu, Batı Karadeniz, il bazında ise Ardahan, Kars, Muş ve Erzurum sayılabilir. Bunun yanında küçük kaz gruplarına Türkiye’nin hemen her ilinde rahatlıkla rastlanabilir. Kars ve Ardahan illerinde toplam kaz sayısı 515.245 adet olup, bu sayı Türkiye kaz varlığının yaklaşık % 48.50’sini oluşturmaktadır (TUİK, 2010).

Dünya’da eti için yapılan kaz yetiştiriciliğinde, kazlar genelde entansif olarak yetiştirilmektedir. Yaklaşık olarak kazlar 8-10 hafta bakılıp, beslenmekte ve ondan sonra pazarlanmaktadır (Grunder ve ark., 1991; Cave ve ark., 1994). Türkiye’de yapılan yetiştiricilik ise genelde aile tipi yetiştiricilik olup, ekstansif olarak yapılmaktadır. Kesime 1-1,5 ay kala kazlara ilave yem verilerek kesim ağırlığı artırılmaya çalışılır. Havaların soğuması ve ilk karın yağmasıyla birlikte damızlık kazlar ayrıldıktan sonra, diğer kazların toplu olarak kesimi yapılır. Kazlar genelde çıkımdan sonra yaklaşık 6-8 ay bakılıp beslenmekte ve ondan sonra kesilmektedir. Kesilen kazlar daha çok aile içerisinde tüketilmektedir. Son yıllarda kesilen kazların bir kısmının ticareti de yapılmaya başlanmıştır (Aşkın ve İlaslan, 1976; İlaslan ve Aşkın, 1977; Kırmızıbayrak, 2002; Tilki ve İnal, 2002; Tilki ve ark., 2004).

Türkiye’de kazlar üzerinde yapılan araştırma sayısı sınırlı olup, daha ziyade Kars ve çevresinde yoğunlaşmıştır. Yetiştirici koşullarında yapılan araştırmalar genelde kazların bazı kesim ve karkas özelliklerinin belirlenmesi için yapılmaktadır. Bu araştırma, yetiştirici koşullarında yerli kazların büyüme ile bazı kesim ve karkas özelliklerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırma, Kars’ın Arpaçay ilçesi Okçuoğlu köyünde yapılmıştır. Araştırmada kullanılan kazlar, 2-3 yaşlı anaç kazlardan elde edilmiştir. Araştırmada büyüme aşamasında 62 erkek ve 49 dişi olmak üzere toplam 111 adet kaz kullanılmıştır. Bazı kesim ve karkas özelliklerini belirlemek için ise 20 erkek, 19 dişi toplam 39 adet kaz kullanılmıştır. Kazlar, köyde birbirine komşu olan ve Nisan ayının son haftasında yumurtadan çıkan üç farklı aileden temin edilmiştir. Kazlar yumurtadan çıktıktan sonra kanat numarası takılarak, canlı ağırlık ve canlı ağırlıktaki değişiklikleri belirlemek amacıyla araştırma süresince 2 haftada bir tartılmışlardır. Araştırmada kullanılan kazlara bölgede yapılan bakım ve beslemeye ilave olarak herhangi bir özel bakım ve besleme uygulanmamıştır. Kazların 39 adeti yaklaşık 25 haftalık yaşta canlı ağırlıkları alındıktan sonra kesilmiştir. Kesimler araştırmanın yapıldığı köyde 25-26 Kasım 2010 tarihlerinde yapılmıştır. Kesim sonrası; karkas ağırlıkları ile baş, ayak, kan, tüy, boyun, karaciğer, taşlık, kalp, bağırsa iç ve abdominal yağ ağırlıkları tartılarak kaydedilmiştir.

İncelenen özelliklere cinsiyetin etkisini belirlemek amacıyla SPSS istatistik paket programı yardımıyla t testi yapılmıştır (SPSS 16.0).

BULGULAR

Erkek ve dişi kazların farklı haftalardaki canlı ağırlık ortalamaları ve standart hataları Tablo 1’de

gösterilmiştir. Çıkım 2, 4 ve 6. hafta canlı ağırlıklar bakımından cinsiyetler arasında istatistikî önemli bir fark görülmemiştir ($P>0.05$). Ancak 8. hafta ve takip eden haftalarda erkek kazların dişi kazlardan daha ağır olduğu belirlenmiştir ($P<0.05-0.001$).

Cinsiyetlere göre farklı haftalar arasındaki günlük canlı ağırlık artış ortalamaları ve standart hataları Tablo 2'de verilmiştir. Cinsiyetler arasında 6-8., 10-12. ve 18-20. haftalar arasında istatistikî olarak önemli farklılıklar tespit edilirken ($P<0.05-0.01$),

diğer haftalar arasında önemli bir farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Tablo 3'te, kesim ağırlığı ile sıcak karkas, baş, ayak, kan, tüy, boyun, karaciğer, taşlık, kalp, bağırsak ve iç+abdominal yağ ağırlığı cinsiyetlere göre verilmiştir. Cinsiyetlere göre kesim, sıcak karkas, ayak, kalp, bağırsak ve iç+abdominal yağ ağırlıkları arasında istatistikî olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir ($P<0.05-0.01$).

Tablo 1. Kazların haftalara göre canlı ağırlık ortalamaları (X) ve standart hata değerleri (Sx), g

Table 1. The weekly values of mean body weights (X) and standard errors (Sx) of geese, g

Hafta	Erkek (n=62)		Dişi (n=49)		Ortalama (n= 111)		Önem
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		
Çıkım	101.19	1.66	99.90	1.32	100.62	1.09	-
2	472.50	20.63	438.58	30.17	457.53	17.60	-
4	1257.01	31.83	1188.96	41.63	1226.97	25.65	-
6	1952.77	41.39	1828.57	55.45	1897.95	34.02	-
8	2673.73	64.03	2433.40	69.96	2567.64	48.40	*
10	3352.47	64.91	3022.92	63.63	3207.00	48.26	**
12	3800.40	59.11	3337.94	74.69	3596.25	51.34	***
14	4158.88	56.48	3680.06	70.45	3947.51	49.57	***
16	4433.93	47.03	3960.77	71.82	4225.06	46.70	***
18	4644.21	46.44	4196.66	63.59	4446.64	43.55	***
20	4826.70	41.67	4426.45	56.48	4650.01	38.90	***
22	4974.13	38.52	4571.22	53.27	4796.30	37.02	***
24	4954.16	37.48	4557.34	50.06	4779.19	35.66	***

-.: $P>0.05$; **: $P<0.05$; ***: $P<0.01$; **: $P<0.001$

Tablo 2. Kazların haftalara göre günlük canlı ağırlık artış ortalamaları (X) ve standart hataları (Sx), g

Table 2. The weekly values of mean body weight gains (X) and standard errors (Sx) of geese, g

Hafta	Erkek (n=62)		Dişi (n=49)		Ortalama (n= 111)		Önem
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		
0-2.hafta	26.52	1.48	24.19	2.20	25.49	1.27	-
2-4. hafta	56.04	2.06	53.60	1.88	54.96	1.42	-
4-6. hafta	49.70	1.23	45.69	1.73	47.93	1.04	-
6-8. hafta	51.50	2.45	43.20	2.83	47.84	1.88	*
8-10. hafta	48.48	3.12	42.11	3.34	45.67	2.29	-
10-12. hafta	31.99	1.99	22.50	1.85	27.80	1.45	**
12-14. hafta	25.61	1.80	24.44	1.91	25.09	1.30	-
14-16. hafta	19.65	1.43	20.05	1.97	19.83	1.18	-
16-18. hafta	15.02	1.00	16.85	1.60	15.83	0.90	-
18-20. hafta	13.04	0.80	16.41	1.07	14.53	0.66	*
20-22. hafta	10.53	0.77	10.34	0.84	10.45	0.56	-
22-24. hafta	-1.41	0.59	-0.99	0.57	-1.22	0.41	-

-.: $P>0.05$; **: $P<0.05$; ***: $P<0.001$

Erkek ve dişi kazların bazı kesim ve karkas özelliklerine ait oranlar Tablo 4'te gösterilmiştir. Oranlar arasında iç+abdominal yağ oranları bakımından

cinsiyetler arasında istatistikî olarak önemli farklılık belirlenmiştir ($P<0.01$). Diğer oranlar arasında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.05$).

Tablo 3. Erkek ve dişi kazların bazı kesim ve karkas özellikleri, g

Table 3. Some slaughter and carcass traits of male and female geese, g

Özellikler	Erkek (n=20)		Dişi (n=19)		Ortalama (n=39)		Önem
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		
Kesim ağırlığı	4734.75	79.39	4396.05	78.56	4569.74	61.60	**
Sıcak karkas ağırlığı	3221.00	49.47	3025.26	43.10	3125.64	36.17	**
Baş ağırlığı	174.50	5.08	172.63	3.34	173.59	3.03	-
Ayak ağırlığı	142.00	3.51	126.32	3.93	134.36	2.89	**
Kan ağırlığı	239.50	8.13	245.26	9.79	242.31	6.27	-
Tüy ağırlığı	308.25	9.39	297.37	7.44	302.95	6.01	-
Boyun ağırlığı	258.75	7.92	250.79	9.27	254.87	6.03	-
Karaciğer ağırlığı	76.00	3.36	66.84	3.13	71.54	2.39	-
Taşlık ağırlığı	194.25	4.37	188.42	3.96	191.41	2.96	-
Kalp ağırlığı	41.75	1.16	36.32	1.75	39.10	1.12	*
Bağırsak ağırlığı	118.50	3.99	105.79	4.62	112.31	3.18	*
İç+abdominal yağ ağırlığı	120.25	9.11	151.32	8.92	135.38	6.78	*

:- $P>0.05$; **: $P<0.05$; ***: $P<0.001$

Tablo 4. Erkek ve dişi kazların bazı kesim ve karkas özellikleri, %

Table 4. Some slaughter and carcass traits of male and female geese, %

Özellikler	Erkek (n=20)		Dişi (n=19)		Ortalama (n=39)		Önem
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		$\bar{X} \pm S\bar{x}$		
Karkas randımanı	68.07	0.31	68.95	0.67	68.50	0.36	-
Baş oranı	3.70	0.11	3.95	0.11	3.82	0.08	-
Ayak oranı	3.01	0.07	2.89	0.10	2.95	0.06	-
Kan oranı	5.10	0.22	5.66	0.31	5.38	0.19	-
Tüy oranı	6.55	0.23	6.83	0.25	6.69	0.17	-
Boyun oranı	8.04	0.22	8.32	0.33	8.18	0.20	-
Karaciğer oranı	2.35	0.09	2.21	0.10	2.29	0.07	-
Taşlık oranı	6.04	0.13	6.25	0.16	6.14	0.10	-
Kalp oranı	1.30	0.04	1.20	0.06	1.25	0.04	-
Bağırsak oranı	3.68	0.11	3.50	0.15	3.59	0.09	-
İç +abdominal yağ oranı	3.72	0.28	5.02	0.31	4.35	0.23	**

:- $P>0.05$; **: $P<0.01$

TARTIŞMA ve SONUÇ

Araştırmada çıkım ağırlıkları erkek kazlar için 101.19 g, dişi kazlar için 99.90 g olarak belirlenmiş olup, ortalama çıkım ağırlığı ise 100.62 g olarak tespit edilmiştir. Ortalama çıkım ağırlığı Tilki ve İnal (2004a)'ın 101.27 g olarak bildirdikleri değer ile benzer bulunmuştur. Erkek ve dişi kazlarda tespit edilen çıkım ağırlıkları ise Saatçı ve ark. (2011)'nın

yerli kazlarda 95.96 ve 93.93 g ve yine Saatçı ve ark. (2005)'nin yerli kazlarda 92.95-98.41 g arasında, Hrouz (1988)'un Bohemian erkek ve dişi kazlarda 82.7 ve 87.8 g, Kumar ve ark. (2009)'nın ortalama 90.49 g olarak bildirdikleri değerlerden yüksek bulunmuştur.

Canlı ağırlıklar bakımından cinsiyetler arasında çıkımdan 6. haftaya kadar herhangi önemli bir farklılık tespit edilememiştir. Ancak 8. haftadan itibaren araştırma bitinceye kadar erkek kazların canlı ağırlıklarının dişi kazlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Araştırmanın büyüme aşamasında kazların canlı ağırlıklarında 18-20. haftaya kadar sürekli olarak artış şekillendiği, fakat bundan sonra büyümede bir yavaşlama olduğu hatta büyümenin durduğu söylenebilir. Bu sonuç yapılan birçok araştırma sonucu ile benzerlik göstermektedir (Kırmızıbayrak, 2002; Tilki ve İnal, 2004a; Kumar ve ark., 2009). On altıncı hafta erkek ve dişi kazların canlı ağırlıkları, Tilki ve İnal (2004a)'ın 4536 ve 3993 g ve yine Tilki ve ark. (2005)'nin 4371 ve 4071 g olarak bildirdikleri değerlere benzer tespit edilmiştir. Diğer haftalardaki canlı ağırlıklar içinde benzer sonuçlar bulunmuştur. Bu çalışmada sadece ekstansif besi uygulanmış ve bazen kesime yakın kazlara tane veya konsantre yemler verilmiş olmasına rağmen, farklı haftalardaki canlı ağırlıkların entansif besiyile yapılan birçok araştırma sonuçları ile arasında herhangi bir önemli farklılık olmadığı görülmektedir.

Ortalama günlük canlı ağırlık artışının en yüksek 2-4. haftalar arasında 54.96 g olarak gerçekleşmiştir. Ayrıca 2. hafta ile 10. hafta arasında günlük canlı ağırlık artışının 45.67-54.96 g arasında değiştiği görülmektedir. Onuncu haftadan sonra günlük canlı ağırlık artışının azalmaya başladığı görülmektedir. Bu sonuçlar yapılan birçok araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Arslan ve İnal, 2002; Tilki ve İnal, 2004a; Saatçı ve ark., 2011).

Kazlar ortalama 25. haftada kesilmişlerdir. Kars ve çevresinde kazlar, yörede ilk karın yağması ya da havaların yeterince soğumasıyla birlikte kesilmektedir. Kar, 2010 yılında beklenen zamanda (Ekim ayının son günleri) yağmaması nedeniyle, kazlar yaklaşık olarak Kasım ayının son günlerinde kesilmiştir. Yetiştirici, Ekim ve Kasım aylarında kazları kesimden hemen önce imkanları ölçüsünde elinde bulunan tane yada konsantre yemlerle besiy almaktadır.

Ancak kar yağışının gecikmesi ile birlikte kesimden önce meranın zayıflaması ve yeterince tane ya da konsantre yem verilememesinden dolayı kazların kesim ağırlıkları son hafta canlı ağırlıklarından düşük olmuştur.

Ortalama kesim ağırlığı erkek ve dişi kazlar için 4734.75 ve 4396.05 g olarak belirlenmiştir. Bu kesim ağırlığı değerleri yörede kazlar üzerinde daha önce yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında; Kırmızıbayrak (2002)'in sonuçları ile benzer, Aşkın ve İlaslan (1976), İlaslan ve Aşkın (1977) ile Tilki ve ark. (2004)'nin sonuçlarından düşük belirlenmiştir. Ayrıca kesim ağırlığı; Mazanowski ve ark. (2006)'nin erkek kazlar için 4567-4885 g arasında, dişi kazlar için 3911-4197 g arasında bildirdikleri ağırlıklarından yüksek, Shrestha ve Grunder (2005)'in farklı kaz ırkları için 4.98-6.52 kg arasında bildirdikleri değerlerden ise düşük bulunmuştur.

Ortalama sıcak karkas ağırlığı (3125.64 g) bölgede yapılan ve benzer zamanda kesilen birçok araştırma sonucu ile genelde benzer bulunmuştur (Aşkın ve İlaslan, 1976; İlaslan ve Aşkın, 1977; Kırmızıbayrak, 2002). Ancak elde edilen sonuçlar, Tilki ve ark. (2004)'nin sonuçlarından düşük, Çelebi (1999) ile Kırmızıbayrak ve ark. (2011)'nin belirlediği sonuçlardan ise yüksek bulunmuştur. Bu araştırma ile diğer araştırmalar arasındaki kesim ağırlıkları arasındaki farklılıkları kesim zamanının farklı olması, bakım besleme yöntemlerinin farklı olması ve farklı ırk/orijinli kazların kullanılmasından kaynaklanmış olabilir.

Ayak, kalp ve bağırsak ağırlığı erkek kazlarda dişi kazlara göre daha yüksek belirlenmiştir. Ancak iç+abdominal yağ oranı, dişi kazlarda erkek kazlara göre daha yüksek bulunmuştur. Diğer özellikler arasında ise herhangi bir önemlilik tespit edilememiştir. Ortalama 302.95 g olarak belirlenen tüy ağırlığı; İlaslan ve Aşkın (1977)'in, erkek ve dişi kazlarda 250.44 ve 249.53 g, Saatçı (2008)'nin 229 ve 195 g olarak tespit ettikleri değerlerden yüksek, Tilki ve ark. (2004)'nin ortalama 304.06 g olarak tespit ettikleri değere benzer bulunmuştur. İstatistiki

olarak önemli bulunmamakla birlikte erkek kazlarda dişi kazlardan daha fazla tüy bulunduğu sonucu, Kozak ve ark. (1995), Rosinski ve ark. (1999) ve Saatçı (2008)'nin sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Araştırmada kazlardan elde edilen önemli ürünlerden biri olan karaciğer ağırlığı erkek ve dişi kazlar için 76.00 ve 66.84 g, ortalama ise 71.54 g olarak belirlenmiştir. Bu değerler birçok araştırma sonucu benzerlik göstermektedir (Tilki ve ark., 2004; Tilki ve İnal, 2004b; Saatçı ve ark., 2009; Tilki ve ark., 2009).

Erkek ve dişi kazların karkas randımanı % 68.07 ve 68.95 olarak bulunmuştur. Bu değerler kazlarda yörede yapılan araştırma sonuçları ile benzerlikler göstermektedir (Tilki ve ark., 2004; Tilki ve İnal, 2004b; Saatçı ve ark., 2009). Ancak ortalama karkas randımanı, bazı araştırma sonuçlarından düşük (Pingel, 1990; Kırmızıbayrak ve ark., 2011), bazı araştırma sonuçlarından ise yüksek (Fortin ve ark., 1983; Wezyk ve ark., 2003; Lukaszewicz ve ark., 2008) belirlenmiştir.

Bölgede kazlardan elde edilen ve değerlendirilen önemli ürünlerden biriside iç+abdominal yağ miktarıdır. Ortalama % 4.35 olarak belirlenen iç+abdominal yağ oranı erkek ve dişi kazlarda sırasıyla %3.72 ve 5.02 olarak tespit edilmiştir. İç+abdominal yağ oranı dişi kazlarda erkek kazlara göre daha yüksek belirlenmiştir. Bu sonuç birçok araştırma sonucu ile benzerdir (Tilki ve İnal, 2004b; Saatçı ve ark., 2009). Ancak iç+abdominal yağ ağırlığı yörede daha önce yapılan bazı araştırma sonuçlarından ise düşük belirlenmiştir (Aşkın ve İlaslan, 1976; İlaslan ve Aşkın, 1977; Kırmızıbayrak, 2002; Tilki ve ark., 2004). Bunun nedeni, bakım ve besleme ile araştırmanın yapıldığı yerlerin farklı olması olabilir.

Özellikle bölgede kaz yetiştiriciliği ile bayanların ilgilenmesi ve ilgilenen ailelerin ekonomik düzeyinin genelde zayıf olması, yetiştiriciyi zorunlu olarak ekstansif yetiştiriciliğe itmektedir. Araştırma ile yetiştirici koşullarında ekstansif olarak yetiştirilen

kazların, entansif olarak yetiştirilen kazlarda yapılan birçok araştırma sonucu ile benzer olduğu hatta bazılarında daha iyi olduğu görülmektedir. Yörede kazlar ilk karın yağmasının ardından kesilmesi, kazların uzun süreli bakılıp beslenmesi gibi bir takım sorunları da beraberinde getirmektedir. Bundan dolayı yetiştirici koşullarında ekstansif şartlarda yetiştirilen yerli kazların besisinin, 18-22 haftalık yaşa kadar uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Arslan C., İnal F., 2002. Farklı kaba yem kaynaklarının yerli kazlarda büyüme performansı ve karkas özellikleri üzerine etkisi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26, 91-96.
- Aşkın Y., İlaslan M., 1976. Kars bölgesi kazlarında ekonomik önemi olan bazı karakterler üzerine araştırmalar. *A.Ü. Ziraat Fak. Yıllığı*, 26, 542-552.
- Cave NA., Grunder AA., Butler G., Fortin A., Pawluczuk B., 1994. Influence of age, sex and pre-slaughter holding conditions on live weight and carcass traits of broiler geese. *Arch. Geflügelk.*, 58, 106-110.
- Çelebi Ş., 1999. Erzurum'da yetiştirilen yerli kazların bazı önemli kesim ve karkas özellikleri üzerine bir araştırma. *Uluslararası Hayvancılık'99 Kongresi*, İzmir, 508-512.
- Fortin A., Grunder AA., Chambers JR., Hamilton RMG., 1983. Live and carcass characteristics of four strains of male and female geese slaughtered at 173, 180, and 194 days of age. *Poult. Sci.*, 62, 1217-1223.
- Grunder AA., Cave NA., Pawluczuk B., Butler G., Poste LM., 1991. Influence of breed, finisher diet, age and sex on liveweight and carcass traits of broiler geese. *Arch. Geflügelk.*, 55, 148-152.
- Hrouz J., 1988. Growth and development of Bohemian geese (Anser anser). *Br. Poult. Sci.*, 29, 53-61.
- İlaslan M., Aşkın Y., 1977. Kars yöresi kazlarında bazı karkas özellikleri üzerinde araştırmalar. *A.Ü. Ziraat Fak. Yıllığı*, 27, 462-467.
- Kırmızıbayrak T., Önk K., Yazıcı K., 2011. Kars ilinde serbest çiftlik koşullarında yetiştirilmiş yerli ırk kazların kesim ve karkas özellikleri üzerine yaş ve cinsiyetin etkisi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 17, 41-45.

- Kırmızıbayrak T., 2002. Kars ilinde halk elinde yetiştirilen yerli ırk kazların kesim ve karkas özellikleri. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26, 667-670.
- Kozak J., Monostori K., Acs I., 1995. Relations of bodyweight with the qualitative and quantitative characteristics of the feather in Hungarian geese. 10th European Symposium on Waterfowl, Halle, Germany, 386-391.
- Kumar RA., Iyue M., Venkataramanan R., 2009. Growth and hatch performance of geese in Hilly Terrain of Nilgiris. IV World Waterfowl Conference, 11-13 November, Thrissur, India, 115-123.
- Lukaszewicz E., Adamski M., Kowalczyk A., 2008. Correlations between body measurements and tissue composition of oat-fattened White Kolduda® geese at 17th week of age. *Br. Poult. Sci.*, 49, 21-27.
- Mazanowski A., Bernacki Z., Adamski M., Kisiel T., 2006. Analysis of time trends for reproductive and meat traits in randomly mated conservation flocks of northern variety geese. *Ann. Anim. Sci.*, 6, 59-74.
- Pingel H., 1990. Genetics of growth and meat production in waterfowl. In: Crawford RD (Ed.): *Poultry Breeding and Genetics*. pp: 691-703, First ed., Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands.
- Rosinski A., Tatsuma K., Korman K., Kawada T., Czechlowska T., 1999. Effect of genotype and sex on the amount of feather and down in the goose. 12th European Symposium on Waterfowl, Adana, Turkey, 73-76.
- Saatcı M., Kırmızıbayrak T., Aksoy AR., Tilki M., 2005. Egg weight, shape index, hatching weight with interrelationship among these traits in different feather coloured Turkish native geese. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 29, 353-357.
- Saatcı M., 2008. Effects of age, sex, feather colour, body measurements, and body weight on down and feather yield in native Turkish geese. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 32, 293-297.
- Saatcı M., Tilki M., Kaya İ., Kırmızıbayrak T., 2009. Effects of fattening length, feather colour and sex on some traits in native Turkish geese. II. Carcass traits. *Arch. Geflügelk.*, 71, 61-66.
- Saatcı M., Arslan C., Ünal Y., Tilki M., Aksoy AR., 2011. Effect of fattening length, sex and feather colour on growth and fattening performance in native Turkish geese. *Eurasian J. Vet. Sci.*, 27 (3): 183-189.
- Shrestha JNB,, Grunder AA., 2005. Body weights, carcass characteristics, fat content, and their relationships in ganders of the Selected Chinese and Synthetic strains, and Embden-sired strain crosses. *Can. J. Anim. Sci.*, 85, 455-461.
- Tilki M., İnal Ş., 2002. Kaz Yetiştiriciliği. *Hay. Araşt. Derg.*, 12, 58-62.
- Tilki M., İnal Ş., 2004a: Türkiye’de yetiştirilen değişik orijinli kazların verim özellikleri. II. Büyüme özellikleri. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28, 157-163.
- Tilki M., İnal Ş., 2004b: Türkiye’de yetiştirilen değişik orijinli kazların verim özellikleri. III. Kesim ve karkas özellikleri. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28, 165-171.
- Tilki M., Saatcı M., Kırmızıbayrak T., Aksoy AR., 2004. Kars ili Boğazköy’de yetiştirilen kazların kesim ve karkas özellikleri. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 10, 143-146.
- Tilki M., Saatcı M., Kırmızıbayrak T., Aksoy AR., 2005. Effect of age on growth and carcass composition of native Turkish geese. *Arch. Geflügelk.*, 69, 77-83.
- Tilki M., Şahin T., Sarı M., Işık S., Saatcı M., 2009. Effect of initial age of fattening and sex on the fattening performance and carcass characteristics in native Turkish geese. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 15, 245-250.
- TÜİK., 2010. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://tuikrapor.tuik.gov.tr>, Erişim tarihi: 28.12.2010.
- Wezyk S., Rosinski A., Bielinska H., Badowski J., Cywa-Benko K., 2003. A note on the meat quality of W11 and W33 White Kolduda geese strains. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 21, 191-199.



Ankara Keçilerinde Propofol ve İzofluran Anestezisinin Oksidatif Stres Üzerine Etkileri

Zeynep PEKCAN^{1✉}, Miyase ÇINAR², Mehmet GÜRKAN¹, Ali KUMANDAŞ¹

1. Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Kırıkkale.

2. Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kırıkkale.

Özet: Bu çalışma, Ankara keçilerinde propofol ve izofluran uygulamasının kan malondialdehit ve antioksidan düzeyleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirildi. Araştırma, vücut ağırlıkları 33.8-49 kg arasında değişen 7 adet klinik olarak sağlıklı, ergin, dişi Ankara keçisi üzerinde yürütüldü. Hayvanlara anestezi indüksiyonu için ortalama 6.56 ± 1.42 mg/kg propofol bolus şeklinde intravenöz olarak uygulandıktan sonra 1 saat süre ile %1-3 konsantrasyonunda izofluran %100 oksijen ile birlikte verildi. Tüm hayvanlardan propofol uygulamasının öncesinde, indüksiyon sonrasında ve izofluran uygulamasından 15, 30, 60, 120 dakika ve 24 saat sonra kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinin plazmalarında malondialdehit (MDA), vitamin A ve β -karoten düzeyleri ile eritrositlerde süperoksid dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri belirlendi. Propofol ve izofluran anestezisi yapılan keçilerde anestezi süresince ve sonrasında plazma MDA, vitamin A düzeylerinde ve eritrosit SOD, CAT aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik tespit edilmedi. Beta karoten düzeylerinde ise propofol uygulamasından sonra istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu belirlendi ($P < 0.05$). Sonuç olarak, Ankara keçilerinde propofol ve izofluran anestezilerinin kan MDA ve ölçülen antioksidan parametre düzeyleri üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Ankara Keçisi, Antioksidan Enzim, İzofluran, Lipid Peroksidasyon, Propofol.

The Effects of Propofol and Isoflurane Anaesthesia on Oxidative Stress in Angora Goats

Abstract: The aim of this investigation was to determine the effect of propofol and isoflurane on blood malondialdehyde and antioxidant levels in goats. The study was performed on seven clinically healthy, adult, female Angora goats weighting between 33.8-49 kg. Anesthesia was induced with 6.56 ± 1.42 mg/kg propofol as a bolus dose intravenously and maintained with %1-3 isoflurane in 100% oxygen for an hour period. Blood samples were collected before and after propofol administration and 15, 30, 60, 120 min and 24 h after isoflurane administration. Malondialdehyde (MDA), vitamin A and carotene levels were examined in plasma, while superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were determined in erythrocytes. In general, there was no significant difference recorded on MDA and vitamin A levels, and SOD and CAT activities before and after propofol and isoflurane administration except for carotene. Beta carotene levels were significantly increased after propofol administration ($P < 0.05$). In conclusion, it was determined that propofol and isoflurane anaesthesia had no adverse effect on blood MDA and antioxidant parameters in Angora goats.

Key words: Angora Goats, Antioxidant Enzymes, Isoflurane, Lipid Peroxidation, Propofol.

✉ Zeynep PEKCAN

Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Kırıkkale, e-posta: vetzeynep@yahoo.com

GİRİŞ

Veteriner hekimlikte güvenle kullanılacak anestezi madde arayışları son yıllarda hızla devam etmektedir. Bu amaçla propofol ve izofluran, üzerinde en çok araştırma yapılan anestezi maddelerinin başında gelmektedir (Koç ve Sarıtaş 2004; Topal 2005). Farklı fizikokimyasal özelliğe sahip birçok ilacın kullanılmasıyla oluşturulan genel anestezi, dolaylı ya da dolaylı olmayan yoldan organizmadaki lipid peroksidasyonu etkileyen bir durumdur. Bu durum, genel anestezi boyunca kullanılan bazı anesteziklerin ve ilaçların oksidasyonu başlatıcı etkilerinin olmasıyla ilişkilendirilmektedir (Khinev ve Dafinova, 1993; Yarsan ve ark., 2010).

Serbest radikaller, aerobik organizmaların normal metabolizmaları sırasında üretilen reaktif oksijen türleri olup (Ames ve ark., 1993) ve lipid, protein ve nükleik asitler gibi makromoleküllerle etkileşerek hücre yapısı ve organellerinde bozukluklara neden olmaktadır. Bu radikaller özellikle hücre membranındaki doymamış yağ asitlerine etki ederek lipid peroksidasyonunu oluştururlar (Akkuş, 1995).

Organizmada serbest radikalleri yok etmek ve bunların neden oldukları hasarları azaltmak için pek çok savunma mekanizması vardır. Bunlardan bazıları süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), vitamin A, β -karoten, tokoferoller (vitamin E), askorbik asit (vitamin C) ve ürik asit gibi antioksidanlardır (Akkuş, 1995; Öz ve Kurtoğlu, 2002). Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır (Mercan, 2004). İnsanlarda ve farklı hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda propofolün (Ansley ve ark., 1999; Yamaguchi ve ark., 2000; Kudo ve ark., 2001; Mercan 2004) ve izofluranın (Yeşilkaya ve ark., 1998; Yurdaoç ve ark., 2008; Yarsan ve ark., 2010) oksidatif stres üzerine etkisinin olduğu bildirilmiştir. Buna karşın, keçilerde propofol ve izofluranın lipid

peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisini gösteren çalışmalara rastlanmamıştır. Son yıllarda, propofol ve izofluran küçük ruminantlarda tercih edilen anestezi maddelerinin başında gelmektedir. Bu nedenle sunulan çalışmada, keçilerde propofol ve izofluranın lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada anamnez, fiziksel muayene ve tam kan sayımından sonra sağlıklı olduğu belirlenen, vücut ağırlıkları 33.8-49 kg arasında değişen (39.2 kg \pm 5.45kg) 7 adet ergin, dişi Ankara keçisi kullanıldı. Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından alınan 10/04 karar numaralı etik kurul onayı ile araştırmaya başlandı. Hayvanlara anestezi indüksiyonu için 4 mg/kg propofol (Propofol %1, Fresenius Kabi, İsveç) bolus halinde intravenöz olarak uygulandı. Ancak entübasyon için yeterli derinlikte anestezinin sağlanmadığı durumlarda keçilere ek doz propofol uygulanarak verilen miktar kaydedildi. Hayvanlara, timpaniyi engellemek için orogastrik sonda yerleştirildi. Sağ lateral pozisyonda yatırılan hayvanlara bir saat süre ile % 1-3 konsantrasyonda izofluran (Forane Likid, ABBOTT Laboratories Ltd., İngiltere), % 100 oksijen (O₂) ile birlikte verildi. Sisteme giren taze O₂ miktarı 3lt/dk olacak şekilde ayarlandı. Çalışma süresince palpebral refleks varlığı, kuyruk ucu ve interdigital aralığın Kocher forsepsi ile sıkıştırılmasıyla yeterli derinlikte anestezi olup olmadığı kontrol edildi. Anestezinin yüzeysel olduğu belirlendiğinde izofluran oranı %3'e çıkarıldı, tekrar yapılan değerlendirmelerde yeterli derinlikte anestezi olduğu düşünüldüğünde verilen izofluran oranı %1'e indirildi.

Premedikasyondan önce, propofol sonrasında ve izofluran uygulamasından 15, 30, 60, 120 dakika ve 24 saat sonra v.jugularis'ten her hayvan için

toplam 7 adet kan örneği lityum heparin içeren vakumlu tüplere alındı. Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de +4 °C, 10 dakika santrifüj edilerek plazma ve eritrositler ayrıldı. Analiz yapılincaya kadar numuneler -80 °C de saklandı. Plazmada MDA ölçümü Morena ve ark. (2003)'nin metoduna göre yapıldı. Tiyoobarbitürik asit ile MDA reaksiyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleks spektrofotometre ile 532 nm'de ölçüldü. Plazmada vitamin A ve β -karoten düzeyleri ise Suzuki ve Katoh (1990)'a göre spektrofotometrik (Shimadzu UV-1700, Japonya) olarak belirlendi.

Eritrositler fosfat tamponu ile 3 kez yıkanarak soğuk bidistile su ile hemolize edildi (Witterbourn ve ark. 1975). Elde edilen eritrosit hemolizatlarında SOD aktivitesi Sun ve ark (1988)'nin bildirdiği metoda göre ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikallerinin nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesi temeline dayanarak belirlendi. Eritrositlerdeki katalaz aktivitesi Aebi (1983)'nin bildirdiği metoda göre tespit edildi. Bu metoda göre katalazın hidrojen peroksit (H_2O_2)'i su ve oksijene parçalaması sırasında meydana gelen absorpsiyon azalması 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hemoglobün (Hb) miktarının ölçümü

ise siyanmethemoglobün metoduna (Fairbanks ve Klee, 1987) göre saptandı.

İstatistiksel Analizler

Gruplar arasındaki farkın kontrolünde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplararası farkın önemlilik kontrolü için de Tukey testi uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmede $P < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 15.0 paket programı ile yapıldı (SPSS Inc., Chicago, ABD).

BULGULAR

Anestezi indüksiyonu için planlanan 4 mg/kg dozda propofol Ankara keçilerinde entübasyona izin verecek derinlikte anestezi sağlamadığı için çalışmaya alınan keçilere 6.56 ± 1.42 mg/kg (ortalama \pm standart sapma) dozda propofol yapıldı.

Sunulan çalışmada, propofol öncesi ve sonrasında ve izofluran uygulamasının 15, 30, 60, 120 dakika ve 24 saat sonrasında keçilerin plazma MDA, vitamin A, karoten düzeyleri ile eritrosit SOD ve CAT aktivitelerindeki değişimler Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Propofol-izofluran anestezisi uygulanan Ankara keçilerinde (n=7) plazma MDA, β -karoten, vitamin A değerleri ile eritrositlerde SOD, CAT aktiviteleri ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).

Table 1. MDA, β -carotene and vitamin A levels in plasma and SOD and CAT activities in erythrocytes in Angora goats (n=7) anaesthetised with propofol and isoflurane ($\bar{X} \pm S\bar{x}$).

Parametreler	Propofol öncesi	Propofol sonrası	izofluranın 15.dk	izofluranın 30. dk	izofluranın 60. dk	izofluranın 120. dk	izofluranın 24. saati	P
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	1.33 \pm 0.16	0.97 \pm 0.06	1.61 \pm 0.12	1.30 \pm 0.16	1.14 \pm 0.21	1.24 \pm 0.12	1.29 \pm 0.16	-
SOD (U/g-Hb)	106.56 \pm 13.19	153.38 \pm 31.55	134.27 \pm 12.71	150.22 \pm 7.23	151.26 \pm 27.28	122.99 \pm 10.99	146.58 \pm 18.87	-
CAT (k/g-Hb)	38.38 \pm 8.21	51.55 \pm 9.39	51.06 \pm 7.91	48.89 \pm 4.84	44.66 \pm 6.97	45.34 \pm 10.15	34.92 \pm 8.46	-
β -karoten (g/dl)	4.98 \pm 0.38 ^b	9.14 \pm 1.14 ^a	8.03 \pm 0.93 ^{ab}	8.93 \pm 1.25 ^{ab}	8.84 \pm 1.14 ^{ab}	7.21 \pm 1.00 ^{ab}	6.95 \pm 0.23 ^{ab}	*
Vitamin A (g/dl)	62.22 \pm 23.35	74.97 \pm 16.98	56.61 \pm 6.17	45.86 \pm 6.57	47.16 \pm 6.22	41.80 \pm 6.50	59.21 \pm 7.71	-

-: önemsiz, *: $P < 0.05$.

a,b: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel açıdan önemlidir.

Propofol uygulamasından sonra keçilerin plazma MDA düzeylerinin propofol öncesine göre azaldığı, gerek propofol öncesi gerekse propofol sonrasında göre izofluran uygulamasından 15 dakika sonra artan plazma MDA düzeylerinin ise daha sonraki dakikalarda azalma gösterdiği, ancak bu artış ve azalışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($P>0.05$) gözlemlendi.

Propofol uygulanan keçilerde eritrosit SOD ve CAT aktivitelerinde anestezi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artma gözlemlendi. İzoflurandan sonra ise SOD aktivitesinde istatistiksel önemde olmayan düzensiz artma ve azalmalar, katalaz aktivitesinde de azalmalar belirlendi ($P>0.05$).

Propofolden sonra anestezi öncesine göre plazma vitamin A değerlerinde istatistiksel olarak önemli olmayan sayısal artışların, izofluran uygulamasına başladıktan sonra azalma eğiliminde olduğu görüldü ($P>0.05$). Plazma β -karoten düzeylerinin ise anestezi öncesine göre propofolden sonra istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi ($P<0.05$), bununla birlikte, izofluran süresince saptanan β -karoten düzeylerindeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde, MDA yaygın olarak kullanılan bir parametredir. İnsanlarda (Ansley ve ark., 1999) ve hayvanlarda (Allaouchiche ve ark., 2001) yapılan çalışmalarda, anestezi amacı ile kullanılan propofolün eritrositlerdeki antioksidan kapasiteyi arttırdığı ve plazma MDA düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir. Bu çalışmada da yukarıdaki araştırmacıların bildirdikleri gibi propofol uygulamasından sonra plazma MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalma tespit edilmiştir.

Ansley ve ark. (1999) insanlarda, uygulanan propofol dozu ile antioksidan kapasitenin ilişkili olduğunu ve yüksek dozda propofol uygulanması ile

MDA düzeyinin daha çok azalacağını ifade etmişlerdir. Ancak, bu çalışmada Ankara keçilerinde uygulanan propofol dozunun MDA düzeyini değiştirmedeği görülmüştür.

Anestezik ajanlarla reaktif oksijen türleri arasında etkileşim olduğu pek çok raporda belirtilmiştir (Ansley ve ark., 1999; Nazıroğlu ve Günay, 1999; Allaouchiche ve ark., 2001; Yurdakoç ve ark., 2008; Kamiloğlu ve ark., 2009). Volatil anesteziklerin hangi mekanizma ile hücrelerin oksidant hasara uğramasına neden olduğu henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bu anesteziklerin substrat oluşturarak kendi serbest radikallerini ürettiği düşünülmektedir (Ansley ve ark., 1999). Halotanın NADPH-sitokrom P-450 sistemiyle metabolize edilmesi ile serbest radikal oluşturduğu, bu serbest radikalın hücre membranlarında lipid peroksidasyonunu başlattığı bildirilmektedir. Çok az düzeyde metabolize edilen ve daha az sayıda serbest radikal oluşturan izofluranın halotandan daha az toksik olduğu da vurgulanmaktadır. Tavşanlarda halotan ve izofluranla yapılan anestezinin kanda lipid peroksidasyon ve antioksidan enzimler üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışma da bu durumu desteklemektedir (Yeşilkaya ve ark., 1998). Buna karşın, Yarsan ve ark. (2010)'larının köpeklerde izofluranın kanda lipid peroksidasyonunu etkilemediğini bildiren çalışma sonuçları ile uyumlu olarak, sunulan çalışmada da, izofluran uygulaması ile MDA düzeylerinde değişiklik görülmemiştir.

Antioksidan enzimlerden olan SOD, hücre hasarına neden olan süperoksidin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalizler. Katalazın ise peroksidaz aktivitesi vardır ve hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar (Akkuş, 1995; Öz ve Kurtoğlu, 2002). Domuzlar üzerinde yapılan bir çalışmada propofol uygulaması ile plazma SOD aktivitesinde herhangi bir değişme olmadığı bildirilmiştir (Allaouchiche ve ark., 2001). Günaydın ve Çelebi (2003)'de propofolün eritrosit SOD ve CAT aktivitelerini etkilemediğini belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada da keçilerde eritrosit SOD ve CAT

aktivitelerinin yukarıdaki araştırmacıların bildirdikleri gibi propofolden sonra değişmediği ve aynı şekilde volatil anesteziplerden olan izofluranın da bu enzim aktivitelerini değiştirmedeği tespit edilmiştir.

Vitamin A prekürsörü olan karotenler oksidasyon ara ürünlerinden singlet oksijen üretimini engelleyerek serbest radikal oluşumunu önler (Öz ve Kurtoğlu, 2002; Dündar ve Aslan, 2000). Nazıroğlu ve Günay (1999) köpeklerde enfloran ile yapılan anestezide, serum vitamin A ve karoten düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada propofolden sonra, anestezi öncesine göre, plazma vitamin A düzeylerinde anlamlı olmayan bir artış gözlenirken, β -karoten düzeylerindeki artış ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bu artışın propofolün antioksidan etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmanın ilerleyen zamanların-da, Nazıroğlu ve Günay (1999)'ın bulgularına paralel olarak, izofluran uygulamasına bağlı, vitamin A düzeylerinde istatistiksel olarak önemli olmayan azalmalar gözlenmiştir. Buna karşın, β -karoten düzeylerinde ise sayısal bir artış tespit edilmiştir ($P>0.05$). Bu artışın izofluranın %100 oksijen ile birlikte verilmesinden dolayı ileri gelebileceği düşünülmektedir; çünkü karotenin antioksidan aktivitesinin, bulunduğu ortamın oksijen konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu bilinmektedir (Dündar ve Aslan, 1999; Öz ve Kurtoğlu, 2002).

Veteriner pratikte anestezi uygulamaları sırasında iskemi reperfüzyon hasarının gelişmesinden şüphelenilen durumlarda antioksidan özelliğe sahip anestezi ilaçlarının tercih edilmesi bir avantaj olacaktır (Günaydın ve Çelebi, 2003). Bu çalışma ile keçilerde, anestezi amacı ile kullanılan propofol ile izofluranın plazma MDA ve vitamin A düzeyleri ile eritrositlerdeki SOD ve CAT aktivitelerini etkilemediği, buna karşın plazma karoten düzeylerinin propofolün etkisiyle önemli düzeyde arttığı, izofluranın ise bu parametreyi etkilemediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, keçilerde propofolün az da olsa antioksidan özelliğinin olduğu, izofluranın ise

oksidatif stres üzerine negatif bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Çalışmada istatistiksel değerlendirmelerde yaptığı katkılardan dolayı Yrd. Doç. Dr. Serkan Erat'a, biyokimyasal analizler sırasında gösterdiği yardımlardan dolayı Veteriner Sağlık teknisyeni Yasin Özkabadayı'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aebi H., 1983. Catalase. In: Bergmeyer HU Ed: Methods of Enzymatic Analysis. Verlag Chemie, Weinheim, 273-286.
- Akkuş İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Basım, Yayım ve Dağıtım, Konya.
- Allaouchiche B., Debon R., Goudable J., Chassard D., Duflo F., 2001. Oxidative stres status during exposure to propofol, sevoflurane and desflurane. *Anesth. Analg.*, 93, 981-985.
- Ames BN., Shigenaga MK., Hagen TM., 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, 7915-7922.
- Ansley DM., Sun J., Visser WA., Dolman J., Godin DV., Garnett ME., Qayumi AK., 1999. High dose propofol enhances red cell antioxidant capacity during CPB in humans. *Can. J. Anesth.*, 46, 641-648.
- Dündar Y., Aslan R., 2000. Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyon. 21-34.
- Fairbanks VF., Klee GG., 1987. Biochemical aspects of haematology. In: Tiez NW Ed: Fundamentals of Clinical Chemistry, 3 th Ed. WB Saunders, Philadelphia, 803-804.
- Günaydın B., Çelebi H., 2003. Genel anesteziplerin serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkisi. *Anestezi Dergisi*, 11, 87-98.
- Kamiloğlu NN., Kamiloğlu A., Beytut E., 2009. Changes in antioxidant system, lipid peroxidation, heart and respiratory rate and rectal temperature with

- ketamine and ketamine-xylazine anaesthesia in Tuj rams. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 15, 205-210.
- Khinev S., Dafinova K., 1993. The effect of general anesthesia and its components on free-radical processes. *Khirurgia*, 46, 49-52.
- Koç B., Sarıtaş KZ., 2004. Genel anestezi, Veteriner Anesteziyoloji ve Reanimasyon, Medipress, Malatya, s: 85-103.
- Kudo M., Aono M., Lee Y., Massey G., Pearlstein RD., Warner DS., 2001. Absence of direct antioxidant effects from volatile anesthetics in primary mixed neuronal-glia cultures. *Anesthesiology*, 94, 303-312.
- Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 15, 91-96.
- Moreno IM., Mate A., Repetto G., Vazquez CM., Camean AM., 2003. Influence of microcystin-LR on the activity of membrane enzymes in rat intestinal mucosa. *J. Physiol. Biochem.*, 59, 293-300.
- Nazıroğlu M., Günay C., 1999. The levels of some antioxidant vitamins, glutathione peroxidase and lipoperoxidase during the anaesthesia of dogs. *Cell Biochem. Funct.*, 17, 207-212.
- Öz N., Kurtoğlu F., 2002. Serbest radikaller ile antioksidan sistemler ve hastalıklarla ilişkileri. *Veterinarium*, 13, 21-31.
- Sun Y., Oberley LW., Li YAA., 1988. Simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.*, 34, 497-500.
- Suzuki J., Katoh N., 1990. A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52, 1281-1283.
- Topal A., 2005. Veteriner Anestezi, Nobel & Güneş, Bursa.,143-147.
- Witterbourn CC., Hawkins RE., Brain M., Carrel W., 1975. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J. Lab. Clin. Med.*, 55, 337-341.
- Yamaguchi S., Hamaguchi S., Mishio M., Okuda Y., Kitajima T., 2000. Propofol prevents lipid peroxidation following transient forebrain ischemia in gerbils. *Can. J. Anesth.*, 47, 1025-1030.
- Yarsan E., Gürkan M., Pekcan Z., İnce S., Kumandaş A., 2010. Effects of halothane and isoflurane anaesthesia on antioxidant enzymes in dogs. *JAVA*, 9, 2513-2516.
- Yesilkaya A., Ertug Z., Yegin A., Melikoglu M., Baskurt OK., 1998. Deformability and oxidant stress in red blood cells under the influence of halothane and isoflurane anesthesia. *Gen. Pharmac.*, 31, 33-36.
- Yurdakoc A., Gunday I., Memiş D., 2008. Effects of halothane, isoflurane, and sevoflurane on lipid peroxidation following experimental closed head trauma in rats. *Acta. Anaesthesiol. Scand.*, 52, 658-663.



Işık Stresi Uygulanan Bildircinların (*Coturnix coturnix japonica*) İnce Barsaklarında Gözlenen Mikroskopik Değişikliklerin İncelenmesi*

Mukadder SUNAR¹, Zekeriya ÖZÜDOĞRU²✉

1. Erzincan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzincan.

2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum.

Özet: Bu çalışma, ışık stresine maruz kalan bildircinların duodenum, jejunum ve ileum'unda meydana gelen değişiklikleri belirlemek amacıyla yapıldı. Bu amaçla 90 adet Japon bildircininin ince barsaklarındaki villus uzunlukları, villus genişliği ve kript derinlikleri incelendi. Duodenum, jejunum ve ileum'ları alınan materyaller %10'luk formalin solusyonunda tespit edildi ve rutin blokması yapıldı. Hazırlanan kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı. Gerekli sayım ve ölçümler yapılarak istatistiksel analiz uygulandı. Yapılan değerlendirmeler sonucunda duodenum'dan ileum'a doğru gidildikçe villus uzunluklarında ve genişliklerinde azalmaların olduğu, cinsiyet ve muamelenin belirli haftalarda bu iki parametre üzerine etkisi tespit edildi. Kript derinliklerinde duodenum'da herhangi bir istatistiksel fark belirlenmezken, jejunum'un 4. haftasında hem cinsiyetin hem de ışık stresinin etkili olduğu, ileum'un sadece 5. haftasındaki cinsiyet faktörünün etkisi gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Bildircin, İnce Barsak, Kript, Stres, Villus.

The Evaluation of Microscopic Changes in the Small Intestines of Quails (*Coturnix coturnix japonica*) Exposed the Light Stress

Abstract: This study was carried out with the aim of determining the changes occurring in duodenum, jejunum and ileum of quails exposing to light stress. For this purpose, 90 Japanese quails were used in the study and villus length, villus depth and crypt depth were investigated. Duodenum, jejunum and ileum of the animals were removed and fixed in 10% of- formalin solution and routine blocking was applied. The prepared sections were stained with hematoxylin-eosin. Required counts and measurements were made and statistical analyses were applied. The results of assessing from duodenum to ileum there was progressive reductions in villus widths and lengths, while gender and treatment were effective during the specific weeks. Although there was statistical difference in the crypt depths in duodenum, but both the gender and light stress were effective factors on the 4th week of jejunum. However, the effect of gender was apparent on the 5th week of ileum.

Key words: Quail, Small Intestine, Crypt, Stress, Villus.

✉ Zekeriya ÖZÜDOĞRU

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, e-posta: zekeriya42@hotmail.com

*Bu çalışma Mukadder Sunar'ın "Işık stresi uygulanan bildircinlarda (*Coturnix coturnix japonica*) ince barsaklarda gözlenen morfolojik değişikliklerin incelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans Tezinin bir kısmından özetlenmiştir.

GİRİŞ

Galliformes sınıfının, Phasianidae familyasından olan Japon bildircini (*Coturnix coturnix japonica*) kanatları yuvarlak, uçmaları zayıf, yürüme şekli adımlama şeklinde, gagaları sert ve kuvvetli, kolay evcilleşen kuşlardır (Crawford, 1990; Gülen, 1975). Duodenum ventriculus gaster'in tunica muscularis'inin m. tenius craniodorsalis'inden çıkar (Fitzgerald, 1969; Baumel, 1979; Dursun, 2002) ve kanatlı hayvanların tümünde U harfi şeklinde bir kıvrım yapar (Doğuer, 1952; Taşbaş 1978; Dursun, 2002). Karın boşluğunun sağında ve caudal'inde yer alan barsak kanalının en uzun parçasını oluşturan jejunum ise ince barsakların esas kısmıdır (Sturkie, 1965; Dyce ve ark., 1987). Jejunum duodenum'un a. mesenterica cranialis üzerinden atladığı yerden başlayarak plica ileocecalis'nin yapıştığı yerde sona erer (Doğuer, 1952; Taşbaş 1978). İleum pars ascendens duodeni'nin dorsalinde, rectum'un ventralinde yer alır (Tanyolaç, 1999; Dursun, 2002). İki cecum'un arasına girmiş olarak duodenum'un kollarına paralel bir halde vücut boşluğunun hemen ortasında bulunur. Cecum'a plica ileocecalis denilen bağ ile bağlanan ileum ince barsakların son bölümüdür ve diğer iki bölüme nazaran daha kısadır (Doğuer, 1952; Tanyolaç, 1999; Dursun, 2002; Yanling ve ark., 2002).

Villus intestinalis'ler mikroskopik olarak görülebilen, 0,5-1 mm uzunluğunda 0,2 mm kalınlığında, ince barsağın lümenine doğru çıkıntı yapan oluşumlardır (Leeson ve Leeson, 1966; Yener, 1998; Junqueira ve Carneiro, 2005;). Duodenum'da yaprak şeklinde olan villuslar, ileum'a doğru ilerledikçe parmak şekline dönüşmektedirler (Bloom ve Fawcett, 1975; Tanyolaç, 1999;). Villuslar tek katlı prizmatik epitel hücreleri ile örtülmüştür. Bu oluşumlar barsağın iç yüzüne kadife manzarası verir ve barsak emilim yüzeyini artırmada önemli rol oynarlar (Bloom ve Fawcett, 1975).

Aptekmann ve ark. (2001) ile Sandıkçı ve ark. (2004) bildircinlerde, Murakami ve ark. (2007) ile

Adipmoradi ve ark. (2006) broyler tavuklarında, Gonzales ve ark. (2003) ile Yamauchi ve Tarachai (2000) tavuklarda, Ferket ve ark. (2002) ise kümes hayvanları üzerinde yaptıkları çeşitli çalışmalarda villus uzunluk ve genişlik ölçülerini araştırmış, bu ölçümlerin gelişim, cinsiyet ve daha farklı etkiler altında oluşturduğu değişiklikleri araştırmışlardır.

Bildircinlerde ışık stresi ile ilgili bazı araştırmalar (Tanaka ve ark., 1965; Ozcan ve Akcapinar, 1992; Aptekmann ve ark., 2001; Sandıkçı ve ark., 2004; Satterlee ve Marin, 2004; Coban ve ark., 2009) yapılmasına karşın ışık stresinin ince barsaklardaki villus ve kript değerleri üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmada ışık stresinin bildircinlerin ince barsaklarındaki villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliklerinde meydana gelen değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Bildircin Ünitesi'nde yürütüldü. Deneme gruplarında, kuluçkadan çıkıştan itibaren rastgele seçilen bildircinler, sürekli aydınlatma (OD:24L) ve aralıklı aydınlatma (2D:2L) gruplarında 45'er adet olmak üzere toplam 90 adet olarak düzenlendi. Denemede, sürekli ve aralıklı aydınlatma gruplarında bulunan hayvanlar için 180x90x50 cm'lik 2 adet bildircin kafesi kullanıldı. Kafeslerin ikisi de penceresiz iki farklı odaya konuldu. İlk hafta 30°C olan sıcaklık daha sonraki haftalarda her gün 2°C düşürülerek 20°C de sabitlendi. İlk 2 hafta broiler I yemi (%23 HP, 2800 Kcal metabolik enerji/kg) daha sonraki dönemlerde broiler II yemi (%18 HP, 2800 Kcal metabolik enerji/kg) ve su *ad libitum* olarak verildi. İkinci haftada cinsiyet dışarıdan belli olmadığından rastgele olarak sürekli ve aralıklı aydınlatma gruplarından 5'er adet olmak üzere toplamda 10 adet bildircin alındı. Daha sonra yapılan diseksiyon ile bu gruptaki hayvanlarında cinsiyetleri belirlene-

rek diğer hayvanlarla aynı işlemlere tabi tutuldu. Üçüncü haftada dişi erkek ayrımının göğüs tüylerinden belli olmaya başladığı andan itibaren ise her bir hafta için hem sürekli hem de aralıklı aydınlatma gruplarından 5'er erkek ile dişi olmak üzere toplamda 20 adet bildircin alındı ve deneme 6 hafta boyunca devam ettirildi. Broyler yetiştiriciliğinde aydınlatma için sürekli ışık kullanıldığından çalışmada bu grup kontrol grubu olarak değerlendirildi.

İkinci haftadan itibaren yaşları belirlenen ve gruplara ayrılan bildircinlar eter anestezi altında kesildi ve abdominal diseksiyon ile ince barsaklar çıkarıldı. Daha sonra duodenum, jejunum ve ileum'un medialinden 1'er cm'lik dokular alınarak %10'luk formalin solusyonunda 48 saat süreyle tespit edildi. Tespit edilen dokuların genel doku takiplerinden sonra parafin ile bloklaması yapıldı. Tespit edilip bloklanması yapılan her bir dokudan rotary mikrotom (Leica RM 2155[®]) ile 5 µm kalınlığında enine kesitler alındı. Hazırlanan bu kesitler hematoksil-eozin boyası ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskobu ve Motic Image Plus 2.0 ML programı kullanılarak her bir preparattan farklı 5 adet villus ve kript'in ölçümü yapıldı, gerekli görülen alanların fotoğrafları çekilerek araştırmada sunuldu.

İstatistiksel analiz için elde edilen tüm verilere One-Way ANOVA (SPSS 10.0) programı ile varyans analizi uygulandı. İstatistiksel önem $P < 0,05$ olarak kaydedildi.

BULGULAR

Işık stresine maruz bırakılan bildircinların ince barsaklarında oluşan mikroskobik farklılıkların belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada villus uzunluk, genişlik ve kript derinliklerinin gelişime bağlı olarak arttığı tespit edilmiş ve elde edilen veriler tabloda gösterilmiştir.

Tablodaki veriler incelendiğinde, duodenumda ki villus uzunluğu haftalara göre değişiklik göstermekle beraber 3. haftada ışık stresinin etkisiyle villus uzunluklarında istatistiksel olarak belirgin bir artışın

($P < 0,05$), cinsiyet faktöründe ise erkek materyallerde bir azalışın ($P < 0,01$) olduğu belirlendi. Duodenum'daki villus genişliği ve kript derinliklerinde ise herhangi bir istatistiksel fark gözlenmedi ($P > 0,05$).

Jejunum'dan elde edilen bulgularda villus uzunluk ve genişliklerinde muamelenin herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenirken, kript derinliklerinde 4. haftada ışık faktörünün belirgin bir şekilde artışa ($P < 0,01$) sebep olduğu, ayrıca erkeklerde kript derinliğinin dişilerden daha az olduğu ($P < 0,05$) tespit edildi.

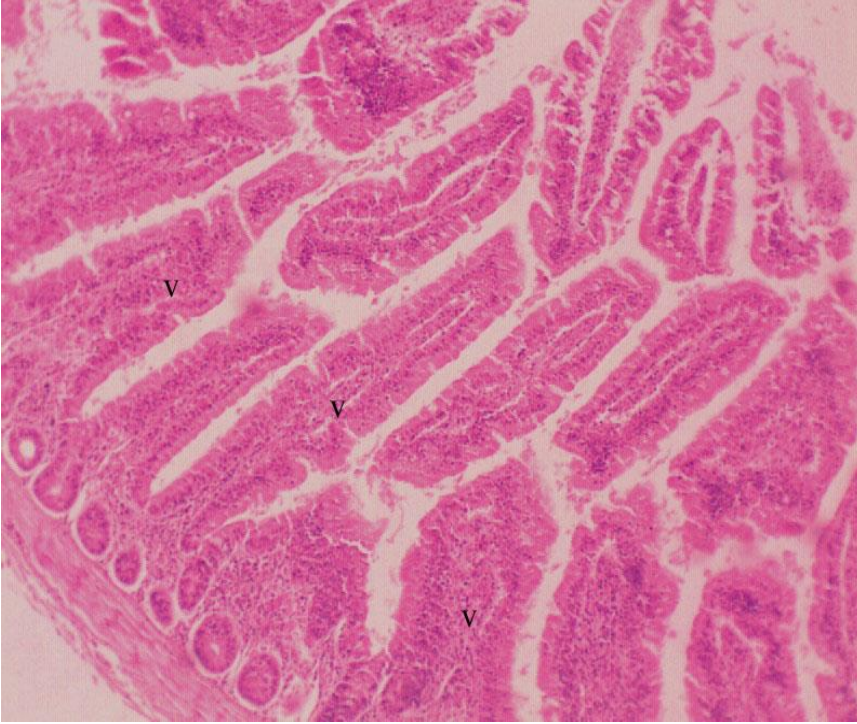
İleum'daki veriler incelendiğinde de 5. haftada dişilerde gözlenen villus uzunluğu ve kript derinliklerinin erkeklerdekenden daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P < 0,05$) tespit edilirken diğer verilerde herhangi bir farklılık belirlenemedi ($P > 0,05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bildircinlarda yaşın ilerlemesiyle villus uzunluklarında, genişliklerinde ve kript derinliklerinde artışların olduğu belirlendi. Işık stresinin duodenum'un 3. haftasındaki villus uzunluğunu $697,82 \pm 11,01$ µm'den $730,90 \pm 11,64$ µm'ye artırdığını, jejunum'un ise 4. haftasında $396,19 \pm 8,02$ µm olan villus uzunluğunu $422,30 \pm 8,48$ µm'ye yükselttiği tesbit edilirken, kript derinliğinin yine aynı haftada $29,01 \pm 2,90$ µm'den $32,78 \pm 3,07$ µm'ye çıkardığı gözlemlendi. Cinsiyetin ise belirli haftalarda villus uzunluk, genişlik ve kript derinliklerine etkili olduğu saptandı. Aptekmann ve ark. (2001) japon bildircinlarında yaptıkları bir çalışmada; farklı seviyelerdeki Ca muamelesinin villus uzunluğu ve kript derinliklerine olan etkilerini incelemişler, barsak mukozasında %2 ve %2,5'lük Ca uygulamasının duodenum'daki villus uzunluklarına ve duodenum, jejunum ve ileum'daki kript derinliklerinde herhangi bir etki oluşturmadığı, %3 lük Ca uygulanan bildircinların %3,5 lük Ca ile muamele gören bildircinlara oranla jejunum ve ileum'daki villus uzunluklarının azaldığını gözlemlemişlerdir.

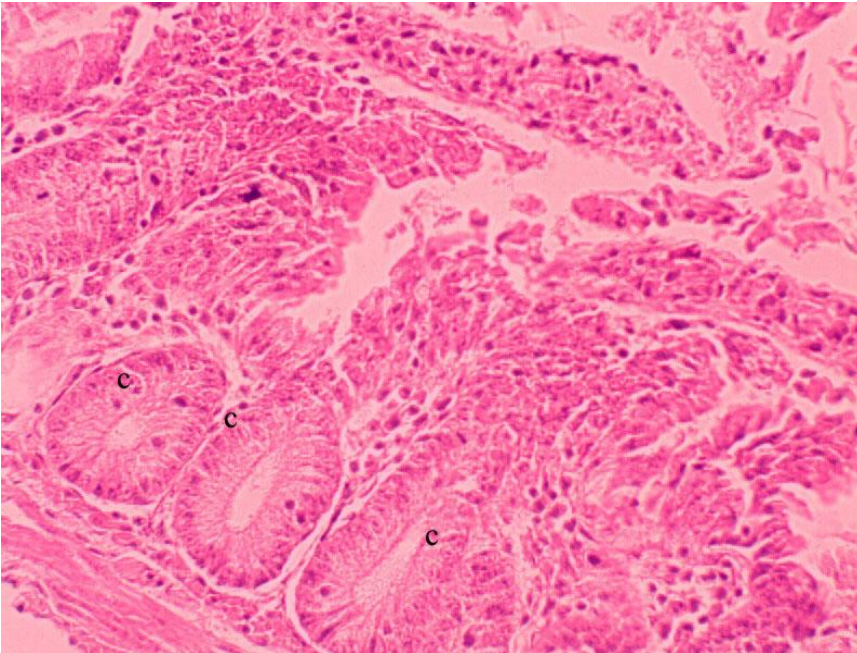
Kript derinliğinin ise duodenum'dan ileum'a doğru gidildikçe azaldığını, farklı Ca muamelelerinde kript derinlikleri üzerinde ise herhangi bir etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Murakami ve ark. (2007) broiler tavuklarında kript derinlikleri ve villus uzunlukları üzerine yaptığı araştırmada, 7-41 günlük tavukların

duodenum, jejunum ve ileum'larında başlangıçtan 41. güne kadar artışların olduğunu, kript derinliklerinde ise düzenli bir artış veya azalış olmamasına karşılık, duodenum'dan ileum'a doğru gidildikçe azalmaların olduğunu gözlemlemişlerdir.



Şekil 1. 6. haftada kesikli ışık grubunda dişi bildircinların duodenum villuslarının (v) görünümü, H&E, X125.

Figure 1. Appearance of duodenal villi (v) of female quails from discontinuous light group in the 6th week, H&E, X125.



Şekil 2. 4. haftada kesikli ışık grubundaki dişi bildircinların jejunum kriptlerinin (c) görünümü, H&E, X200.

Figure 2. Appearance of jejunal crypts (c) of female quails from discontinuous light group in the 4th week, H&E, X200.

Tablo: Duodenum, jejunum ve ileum'dan elde edilen mikroskopik verilere ait varyans analiz sonuçları ($\bar{x}\pm se$).

Table: The results of variance analysis using the microscopic data obtained from duodenum, jejunum and ileum ($\bar{x}\pm se$).

Faktörler	Duodenum			Jejunum			İleum				
	Villus Uzunluğu (μm)	Villus Genişliği (μm)	Kript Derinliği (μm)	Villus Uzunluğu (μm)	Villus Genişliği (μm)	Kript Derinliği (μm)	Villus uzunluğu (μm)	Villus Genişliği (μm)	Kript Derinliği (μm)		
2. hafta	Muamele	Sürekli Işık	888,46 \pm 26,53	106,37 \pm 22,42	46,57 \pm 1,99	421,50 \pm 11,30	93,83 \pm 3,30	38,35 \pm 7,14	262,51 \pm 7,03	85,34 \pm 3,93	35,36 \pm 2,02
		Kesikli Işık	824,14 \pm 22,85	113,97 \pm 19,32	40,26 \pm 1,71	387,55 \pm 9,73	88,94 \pm 2,84	30,97 \pm 6,15	265,09 \pm 6,06	93,47 \pm 3,39	39,23 \pm 1,74
	Cinsiyet	Dişi	863,43 \pm 22,85	109,12 \pm 19,32	42,76 \pm 1,71	402,18 \pm 9,73	93,16 \pm 2,84	36,13 \pm 6,15	262,21 \pm 6,06	86,88 \pm 3,39	34,54 \pm 1,74
		Erkek	849,17 \pm 26,53	111,22 \pm 22,42	44,07 \pm 1,99	406,87 \pm 11,30	89,61 \pm 3,30	35,19 \pm 7,14	265,39 \pm 7,03	91,93 \pm 3,93	40,05 \pm 2,02
3. hafta	Muamele	Sürekli Işık	697,82* \pm 11,01	106,81 \pm 4,34	40,17 \pm 1,08	381,25 \pm 15,35	85,50 \pm 1,40	33,47 \pm 6,42	272,02 \pm 9,72	85,68 \pm 3,27	30,78 \pm 1,00
		Kesikli Işık	730,90* \pm 11,64	116,41 \pm 4,59	40,75 \pm 1,00	397,07 \pm 14,31	85,84 \pm 1,31	31,23 \pm 5,98	259,53 \pm 9,06	84,57 \pm 3,04	30,42 \pm 0,93
	Cinsiyet	Dişi	742,05** \pm 11,64	114,40 \pm 4,59	40,87 \pm 1,08	393,57 \pm 15,35	87,71 \pm 1,40	31,84 \pm 6,42	262,32 \pm 9,72	81,89 \pm 3,27	31,24 \pm 1,00
		Erkek	686,67** \pm 11,01	108,82 \pm 4,34	40,04 \pm 1,00	384,75 \pm 14,31	83,62 \pm 1,31	32,85 \pm 5,98	269,23 \pm 9,06	88,36 \pm 3,04	29,96 \pm 0,93
4. hafta	Muamele	Sürekli Işık	824,60 \pm 27,43	130,83 \pm 3,51	45,20 \pm 1,77	396,19* \pm 8,02	94,01 \pm 2,22	29,01** \pm 2,90	288,09 \pm 8,10	92,00 \pm 2,80	33,55 \pm 1,18
		Kesikli Işık	798,41 \pm 25,56	124,06 \pm 3,27	45,36 \pm 1,87	422,30* \pm 8,48	88,91 \pm 2,35	32,78** \pm 3,07	299,86 \pm 8,57	95,54 \pm 2,96	35,50 \pm 1,25
	Cinsiyet	Dişi	802,96 \pm 27,43	124,10 \pm 3,51	44,18 \pm 1,87	403,44 \pm 8,48	92,91 \pm 2,35	31,40* \pm 3,07	286,72 \pm 8,57	92,49 \pm 2,96	33,43 \pm 1,25
		Erkek	820,05 \pm 25,56	130,79 \pm 3,27	46,39 \pm 1,77	415,04 \pm 8,02	90,01 \pm 2,22	30,39* \pm 2,90	301,23 \pm 8,10	95,06 \pm 2,80	35,62 \pm 1,18
5. hafta	Muamele	Sürekli Işık	852,72 \pm 23,57	141,46 \pm 7,82	41,79 \pm 1,57	411,81 \pm 11,26	83,98 \pm 1,24	35,35 \pm 7,12	292,40 \pm 6,90	97,44 \pm 3,02	33,72 \pm 0,90
		Kesikli Işık	793,83 \pm 20,78	132,70 \pm 6,90	45,80 \pm 1,38	414,12 \pm 9,93	81,88 \pm 1,09	32,67 \pm 6,28	278,53 \pm 6,09	92,44 \pm 2,66	32,28 \pm 0,79
	Cinsiyet	Dişi	838,91 \pm 23,57	143,20 \pm 7,82	45,81 \pm 1,57	414,60 \pm 11,26	82,70 \pm 1,24	34,04 \pm 7,12	296,91* \pm 6,90	94,29 \pm 3,02	34,52* \pm 0,90
		Erkek	807,64 \pm 20,78	130,95 \pm 6,90	41,78 \pm 1,38	411,34 \pm 9,93	83,15 \pm 1,09	32,97 \pm 6,28	274,02* \pm 6,09	95,59 \pm 2,66	31,49* \pm 0,79
6. hafta	Muamele	Sürekli Işık	897,93 \pm 32,19	142,69 \pm 4,52	43,16 \pm 1,16	429,88 \pm 9,18	91,35 \pm 1,39	39,00 \pm 7,18	329,87 \pm 10,82	103,90 \pm 4,11	36,95 \pm 0,83
		Kesikli Işık	944,51 \pm 30,44	146,51 \pm 4,27	44,58 \pm 1,10	432,38 \pm 8,69	87,91 \pm 1,32	42,18 \pm 6,79	335,86 \pm 10,24	99,17 \pm 3,89	36,22 \pm 0,78
	Cinsiyet	Dişi	918,89 \pm 32,19	141,63 \pm 4,52	44,03 \pm 1,16	427,93 \pm 9,18	88,90 \pm 1,39	40,28 \pm 7,18	320,11 \pm 10,82	99,45 \pm 4,11	35,92 \pm 0,83
		Erkek	923,54 \pm 30,44	147,58 \pm 4,27	43,70 \pm 1,10	434,33 \pm 8,69	90,37 \pm 1,32	41,90 \pm 6,79	345,62 \pm 10,24	103,61 \pm 3,89	37,25 \pm 0,78

*:P<0,05

** :P<0,01

Gonzales ve ark. (2003) tavuklarda yaptıkları çalışmada duodenum, jejunum ve ileum'daki villus uzunluk ve kript derinliklerinin cinsiyet ve beslenme ile gelişimine bakmış, duodenum ve jejunum'da villus uzunluklarının kontrol gruplarındaki erkeklerde daha yüksek olduğunu, ileum'da ise dişilerde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Beslenmenin kript derinlikleri üzerine olan etkisinin duodenum'da kript derinliğini azalttığını, jejunum'u hafif olarak etkilediğini, ileum'da ise herhangi bir değişikliğe neden olmadığını ifade etmişlerdir. Adipmoradi ve ark. (2006) broiler tavuklarında yaptıkları bir çalışmada; sarımsak muamelesinin villus uzunluğu ve kript derinliklerine etkisini incelemiş, muamelelerin artan değerlerinde duodenum, jejunum ve ileum'un villus yüksekliğinin de arttığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde kript derinliklerinde de muamelelerin artışıyla birlikte bir artış olduğunu bulmuşlardır.

Yamauchi ve Tarachai (2000) tavuklarda yaptıkları çalışmada; barsak fonksiyonlarını incelemiş, villus uzunluklarının perhiz ve tekrar besleme muameleleriyle olan etkileşimlerini araştırmışlar, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında perhiz gruplarında villus uzunluklarının önemli derecede azaldığını tekrar besleme uygulanan bildircin gruplarında ise perhiz grubuna göre önemli derecede artış gösterip kontrol grubundaki uzunluğa kadar ulaştığını bildirmişlerdir. Sandıkçı ve ark. (2004) bildircinlerde yaptıkları bir çalışmada; villus genişlikleri üzerine sıcaklık stresinin etkisini incelemiş, kontrol gruplarında villus genişliklerinin duodenum'dan ileum'a doğru gidildikçe azaldığını, sıcaklık stresi uygulanan bildircinlerde ise duodenum ve ileum'da artış, jejunum'da azalış belirlenmesine karşın bu değerlerin istatistiksel olarak önemsiz olduğunu gözlemlemişlerdir.

Bu araştırmada; ışık faktörünün villus uzunluğu ve kript derinliklerine olan etkileri incelendiğinde, duodenum, jejunum ve ileum'un villus uzunluklarının Yamauchi ve Tarachai (2000), Aptekmann ve ark. (2001), Gonzales ve ark. (2003),

Sandıkçı ve ark. (2004), Adipmoradi ve ark. (2006) ile Murakami ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışmalara benzer şekilde duodenum'dan ileum'a doğru gittikçe azaldığı ve ışık faktörünün duodenum'da 3. haftada, jejunum'da 4. haftada istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Kript derinliklerinde ise yine duodenum'dan ileum'a doğru gittikçe azalmalar gözlemlendiği, jejunum'un 4. haftasındaki kript derinliğinin istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada; ışık stresinin 3. haftada duodenum'daki villus uzunluğunda önemli derecede artışa neden olduğu tespit edilirken aynı haftada cinsiyet faktörünün de etkisi istatistiksel olarak önemli bulundu. Jejunum'un 4 haftasında ışık stresinin hem villus uzunluğunda hem de kript derinliğinde artış gözlemlendiği, ayrıca dişilerdeki kript derinliğinin erkeklerden daha fazla olduğu belirlendi. İleum'da ise cinsiyet faktörünün villus uzunluk ve kript derinliklerinde istatistiksel olarak etkili olduğu saptandı.

KAYNAKLAR

- Adipmoradi M., Navidshad B., Seifdavati J., Royan M., 2006. Effect of dietary garlic meal on histological structure of small intestine in broiler chickens. *The Journal of Poult. Sci.*, 43, 378-373.
- Aptekmann KP., Baraldi Artoni SM., Stefanını MA., Orsı MA., 2001. Morphometric analysis of the intestine of domestic quails (*Coturnix coturnix japonica*) treated with different levels of dietary calcium, *Anat. Histol. Embryol.* 30, 277-280.
- Baumel JJ., 1979. *Nomina Anatomica Avium "An Annotated Anatomical Dictionary of Birds"*. Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco.
- Bloom W., Fawcett DW., 1975. *A Textbook of Histology*. 12th ed., W.B. Saunders Company Philadelphia, London, Toronto.
- Coban O., Lacin E., Sabuncuoğlu N., Ozudogru Z., 2009. Effect of self-photoperiod on live weight, carcass

- and growth traits in quails (*Coturnix Coturnix Japonica*). Asian- Aust. J. Anim. Sci., 22-3, 410-415.
- Crawford RD., 1990. Origins and history of poultry species. In: Crawford, R.D, ed poultry breeding and genetics. Developments in animal and veterinary science Amsterdam; Elsevier; 22, 10-41.
- Doğuer S., 1952. Evcil Hayvanların Comparatif Sistematik Anatomisi. Ankara Üniversitesi Basımevi., 90-92.
- Dursun N., 2002. Evcil Kuşların Anatomisi. Medisan Yayın Evi, Ankara. 64-67.
- Dyce KM., Sack WO., Wensing CJG., 1987. Textbook of veterinary anatomy. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sidney, Tokyo. 779-784.
- Ferret PR., Parks CW., Grimes JL., 2002. Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. Multi-State Poultry Meeting., 14-16.
- Fitzgerald TC., 1969. The Coturnix Quail Anatomy and Histology. The Iowa State University Press., 221-224.
- Gonzales E., Kondo N., Saldanha ESPB., Loddy MM., Careghi C., Decuyper E., 2003. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period, Poul. Sci. 82, 1250-1256.
- Gülen KÖ., 1974-1975. Omurgalı Hayvanların Sistematiği, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Zooloji Kürsüsü.
- Junqueira LC., Carneiro J., 2005. Basic Histology, text & atlas. 11nd Ed. Lange Medical Publications, California 322.
- Leeson RC., Leeson ST., 1966. Histology, Philadelphia Saunders Company, 292-297.
- Murakami AE., Sakamoto MI., Natali MRM., Souza LMG., Franco JRG., 2007. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens, Poul. Sci. 86, 488-495.
- Ozcan I., Akcapinar H., 1992. Effect of different lighting programs on growth and carcass quality in quails. Lalahan Hay. Aras. Ens. Derg., 33 (1-2), 65-84.
- Sandikci M., Eren U., Onol AG., Kum S., 2004. The effect of heat stres and the use of saccharomyces cerevisiae or (and) bacitracin zinc againts heat stress on the intestinal mucosa in quails. Rev. Med. Vet., 155 (11), 552-556.
- Satterlee DG., Marin RH., 2004. Photoperiod-Induced changes in cloacal gland physiology and testes weight in male japanese quail selected for divergent adrenocortical responsiveness. Poul. Sci., 83, 1003-1010.
- Sturkie PD., 1965. Avian Physiology. 2th ed., Rutgers University The State University of New Jersey., Ithaca, N.Y: Comstock Pub. Associates.
- Tanaka K., Mather FB., Wilson WO., McFarland LZ., 1965. Effect of photoperiod, on early growth of gonads and on potency of gonadotropins in the anterior pituitary of coturnix. Poul. Sci., 44, 662-665.
- Tanyolaç A., 1999. Özel Histoloji. Yorum Basım Yayın Sanayi Ltd. Şti., Ankara. 97- 99.
- Taşbaş M., 1978. Evcil kanatlılardan tavuk, horoz ve hindi'nin sindirim sistemleri üzerine karşılaştırmalı makroanatomik ve subgros araştırmalar. Bölüm: 1. Esophagus ve cloaca arası. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi., 25-3, 500-516.
- Yamauchi K., Tarachai P., 2000. Changes is intestinal villi, cell area and intracellular autophagic vacuoles related to intestinal function in chickens. Br. Poul. Sci. 41, 416-423.
- Yanling D., Soren G., Jingbo Z., Fengyuan Z., Hans G., 2002. Morphometric and biomechanical intestinal remodeling induced by fasting in rats. Dig. Dis. Sci., 47-5, 1158-1168.
- Yener A., 1998. Temel Histoloji. Barış Kitabevi, İstanbul. 288-293.



Denizli Horozu Genital Sistemi Üzerinde Histokimyasal Araştırmalar*

Nazan KESKİN^{✉*}, Pınar İLİ

Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli

Özet: Bu çalışmada, Denizli horozu genital sisteminin ışık mikroskopik yapısı histokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır. Ductuli efferentes'in lamina epitelyalisini çekirdekleri apikalde yer alan silyumlu hücreler ve çekirdekleri bazalde yer alan silyumsuz uzun hücrelerden oluşan tek katlı prizmatik epitel hücrelerinin meydana getirdiği görüldü. Ductus epididymidis epitelisi ise apikallerinde büyük salgı granülleri içeren yalancı çok katlı prizmatik epitel yapısında ve lümeninde olgun spermatozoa yer alan bir kanaldı. Spermatogenik germ hücreleri, özellikle spermatogoniumlar bazik bir boya olan toluidin blue ile yoğun boyanmıştır. Fosfotungustik asit-hematoksilen boyama ile spermatogenik germ hücrelerinde, intersitisyel alandaki fibrillerde, bazal membranda ve kılcak damar çevresinde pozitif boyanma reaksiyonu gözlemlendi. Spermatogenik germ hücrelerinin çekirdek yapıları ve intersitisyel alandaki arteriolün iç elastik membranı orsein ile pozitif boyanma reaksiyonu göstermiştir. Sonuç olarak, Denizli horozu genital sisteminin yapısının histokimyasal olarak araştırılması, ırkın yapısal özelliklerinin tanıtımı bakımından önemli olabilir.

Anahtar kelimeler: Denizli Horozu, Epididymis, Işık Mikroskop, Testis

Histochemical Investigations on the Reproductive System in Denizli Cock

Abstract: In this study, the light microscopic structure of the reproductive system of Denizli cock was investigated by histochemical methods. The lamina epithelialis in the ductuli efferentes contains long ciliated and nonciliated simple cylindrical cells having apically and basally located nuclei, respectively. The ductus epididymidis is made of pseudostratified cylindrical epithelial cells which contain large secretory vacuoles in their apical portions, its lumen contains mature spermatozoa. Spermatogenic germ cells, especially spermatogoniums showed strong staining reactions with basic dye, toluidine blue. Positive staining reactions were observed in spermatogenic germ cells, fibers in interstitial region, basement membrane and around the capillary by phosphotungstic acid-hematoxyline staining. The nuclear structures of spermatogenic germ cells and the internal elastic membrane of arteriole in interstitial region showed positive orcein staining reaction. As a result, histochemical investigations of genital system structure of Denizli cock can be important in terms of the introduction of structural features of the race.

Key words: Denizli Cock, Epididymis, Light Microscopy, Testis

[✉]Nazan Keskin, Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli, E-posta: nkeskin@pau.edu.tr

*Araştırma 20.Ulusal Biyoloji Kongresi (21-25 Haziran 2010-Denizli)'nde poster sunumu olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Türkiye'nin en önemli yerli tavuk ırklarının arasında Denizli, Gerze, Hacı Kadın ve Sultan sayılabilir (Aksoy, 1999). Denizli ve Gerze tavuk ırkları soyu tükenmeye başlayan ve koruma altında olan ırklardır (Ertuğrul, 2006; Özdoğan ve Gürçan, 2006; Kırdag, 2007). Denizli Horozu, Denizli ve Muğla illerinde yetiştirilen güzel görünümü ve uzun süren kesintisiz ötüşü ile ünlü, uzun yıllar Denizli'nin her türlü çevre koşullarına uyum sağlamış, çeşitli salgın hastalıklara direnç kazanmış özel bir ırktır (Anonim 2006. T.C. Denizli Valiliği. Denizli Horozu., Özdoğan ve Gürçan, 2006).

Kuşlarda bir çift abdominal testis, cranioventral olarak ilk böbrek lobu üzerine yerleşmiştir. Testisteki seminifer tübüllerde, bazal membran üzerinden lümeneye doğru uzanan spermatogenik germ hücreleri ile aralarında onları koruyan ve besleyen Sertoli hücreleri bulunur. Memelilerde ve diğer omurgalılarda, seminifer tübüllerdeki germ hücreleri, Sertoli hücreleri sitoplazmasıyla yakın ilişkili olarak farklılaşırlar. Horozlarda sperm üretiminin maksimum düzeyde olmasında, Sertoli hücrelerinin normal gelişiminin önemli olduğu bildirilmiştir (J.Powley, 2008). Seminifer tübüller arası intersitisyel alanda, kan ve lenf damarları, testesteron hormonu üreten Leydig hücreleri ile makrofajlar yer alır. Bazal membran, homojenize mikrofibriler katman üzerine yerleşmiştir (Aire, 1997).

Kuşlarda epididimal bölge; rete testis, ductuli efferentes, bağlayıcı kanallar ve ductus epididymidis'den oluşur (Tingari, 1971; Hess ve Thurston, 1977; Aire, 1979). Horozlarda bu yapı, sperm olgunlaşması ve aktarımı, sıvıların salgılanması ve emilimi ve dejenere spermlerin uzaklaştırılmasında rol alır (Tingari, 1972; Aire ve Soley, 2000). Rete testis kuşlarda, testisin dorsomedialinde yer alır ve spermleri seminifer tübüllerden ductuli efferentes'e taşır (Aire, 1982). Rete testis ve epididymis'i bağlayan (Hess, 2000) ve oldukça kıvrımlı epitelden yapıli tübüllerden oluşan ductuli

efferentes kanalları, epididimal yapının %77'sini kapsar (Janssen ve ark., 1998). Testislerin ön ve arkasına doğru kıvrımlı bir kanal şeklinde uzanan epididymis ise, spermlerin olgunlaştığı yerdur ve ductus deferens denilen sperm kanalına açılır (Tingari, 1971).

Horozlarda genital sistemin özellikle testis gelişiminin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi verimliliğin devamı için önemlidir. Bu çalışmada, özel bir ırk özelliği taşıyan Denizli horozunun genital sisteminin bazı özelleşmiş yapıları histokimyasal yöntemler ile araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

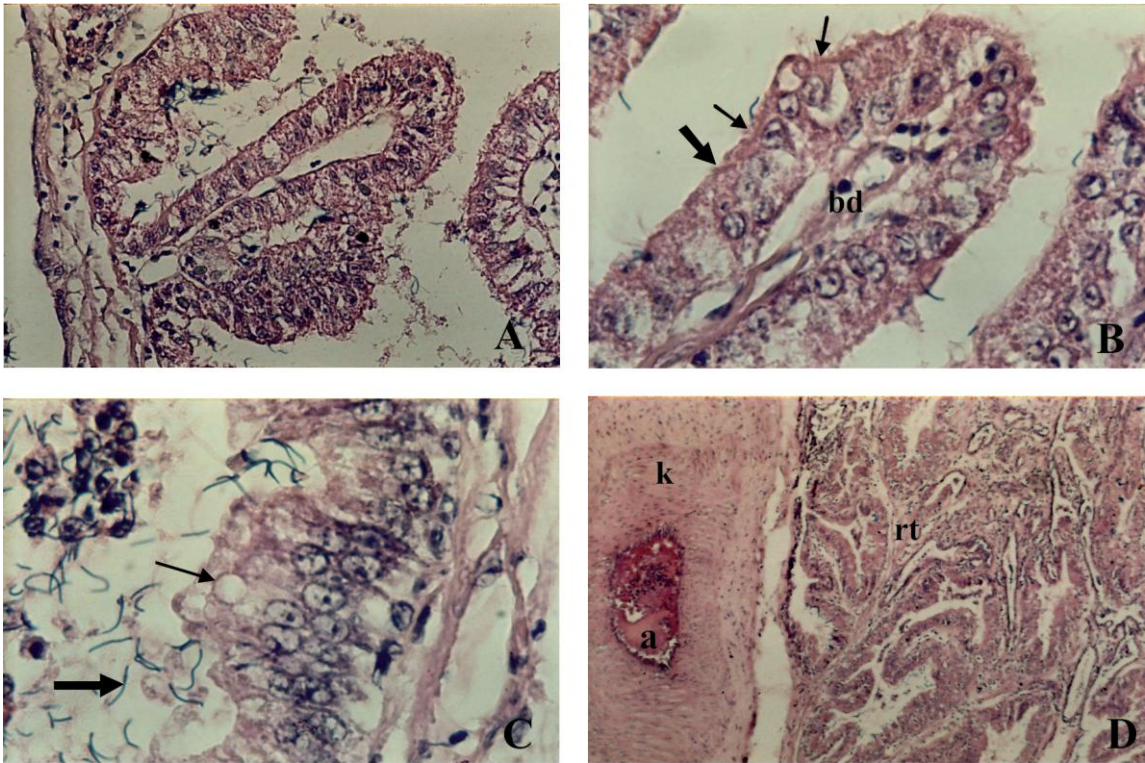
Denizli Horozları (n=15), Denizli İl Tarım Müdürlüğü Denizli Irkı Üretim Biriminden temin edilmiştir. Çalışma, Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu (HADEK) onayı (karar tarihi: 16.05.2007/karar no: 05) kapsamında gerçekleştirilmiştir. Horozlara ait testis dokuları, %10'luk formaldehit solusyonunda (Karan ve ark., 2006) tespit edildikten sonra, doku takipleri yapılmış ve parafine gömülmüştür. 5 µ'luk kesitler, genel histomorfolojik yapıyı göstermek için Hematoksilin&Eosin (H&E) (Harris, 1898), kollajen iplikleri göstermek için Mallory'nin fosfotungustik asit-hematoksilen (PTAH) (Mallory, 1968), çekirdek gibi bazofilik yapıları göstermek için toluidin blue (TB) (Bancroft ve ark., 1990) ve spermatogenik germ hücrelerinin çekirdek yapılarını ve elastik iplikleri göstermek için Taenzer-Unna'nın orsein (O) histokimyasal boyama yöntemleri uygulanmıştır. Çalışmada, Nomina Anatomica Veterinaria' daki (2005) anatomik terimlerden yararlanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Genital kanallardan ductuli efferentes'in kıvrımlı mukozasının lamina epitelyalisi, silyumlu ve silyumsuz tek katlı prizmatik hücrelerden oluşmuş-

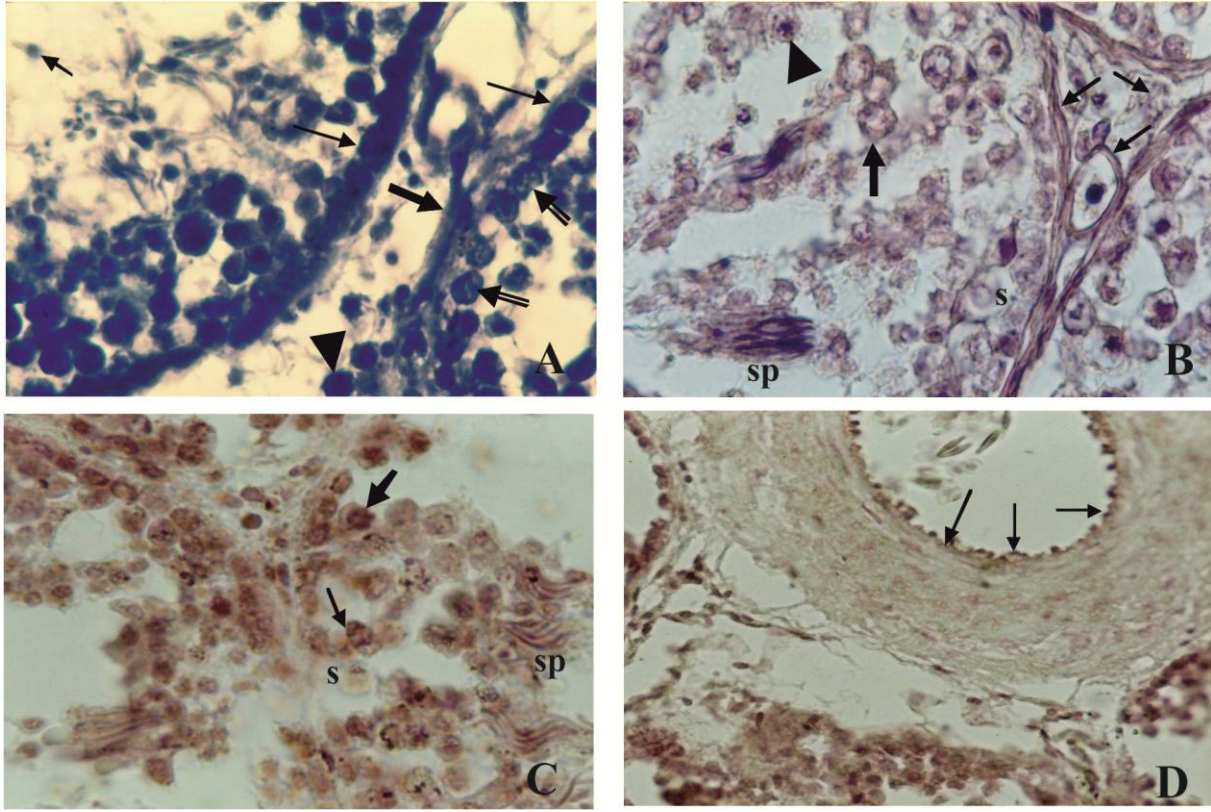
tur. Silyumlu hücrelerin çekirdeklerinin apikalde, silyumsuz hücrelerinin çekirdeklerinin ise bazalde yerleştiği gözlenmiştir (Şekil 1A-B). Ductus epididymidis epitel, yalancı çok katlı epitel tipindedir. Epitel hücreler, apikallerinde büyük salgı granülleri içerir. Lümeninde olgun spermatozoa yer almaktadır (Şekil 1C). Kas tabakası ile ilişkili rete testis, kıvrımlı kanallardan oluşmuştur (Şekil 1D). Ayrıca, TB uygulanan kesitlerde, seminifer tübüllerde yer alan germ hücrelerinden bazalde yer alan spermatogonyumlar oldukça yoğun reaksiyon gösterirken, spermatozidlerde daha az yoğun reaksiyon meydana gelmiştir. Lümendeki sperm

başındaki çekirdeğin TB-pozitif reaksiyon verdiği görülmüştür (Şekil 2A). İntersitisyel alanda, bazal membranda ve damar çevresinde PTAH-pozitif fibril yapılar ayırt edilmiştir. Bu boyama ile spermatogenik seri hücrelerinden spermatozidler çekirdek yapıları da gösterilmiştir (Şekil 2B). Bununla birlikte, spermatogenik seri hücrelerinin kromatin yapısı orsein boyama ile de gözlenmiştir. Hücrelerin arasında açık boyanmış iri Sertoli hücreleri ayırt edilmiştir (Şekil 2C). İntersitisyel alandaki arteriölün iç elastik membranında yoğun O-pozitif reaksiyon meydana gelmiştir (Şekil 2D).



Şekil 1. A: Ductuli efferentes'in kıvrımlı epitel, H&Ex200. **B:** Ductuli efferentes'de silyumlu (ince oklar) ve silyumsuz (kalın ok) hücreler. Silyumlu hücrelerin çekirdekleri apikalde, silyumsuz hücrelerin bazalde yerleşmiştir. Bağ doku (bd), H&Ex1000. **C:** Ductus epididymidis, apikalinde büyük salgı granülleri (ince ok) bulunan hücrelerden oluşan yalancı çok katlı prizmatik epitel görülmektedir. Lümeninde spermatozoa (kalın ok) bulunmaktadır, H&Ex1000. **D:** Rete testis (rt), Kas tabakası (k), Arter (a), H&Ex200.

Figure 1. A: The folded epithelium of the ductuli efferentes, H&Ex200. **B:** Ciliated (thin arrows) and non-ciliated (thick arrow) cells in ductuli efferentes. The nucleus of ciliated cell is located apically, the nucleus of non-ciliated cell is located basally. Connective tissue (bd), H&E x1000. **C:** The pseudostratified prismatic epithelium formed from the cells having large secretory granules (thin arrow) in their apical parts are visualized in the ductus epididymidis. The lumen contains spermatozoa (thick arrow), H&Ex1000. **D:** Rete testis (rt), Muscle layer (k), Arter (a), H&Ex200.



Şekil 2. A: Koyu (ince oklar) ve açık (çift oklar) spermatogenik hücreler, bazal membran (kalın ok), Leydig hücresi (ok başı), sperm başı (kısa ok), TBx1000. **B:** İntersitisyel alanda PTAH-pozitif fibriller (ince oklar), metafazda bir spermatogenik hücre (okbaşı), spermatosit (kalın ok), spermatid (sp), Sertoli hücresi (s), PTAHx1000. **C:** Spermatogenik germ hücrelerin çekirdek yapıları görülmektedir. Anafaz (ince ok), Profaz (kalın ok), spermatid (sp), Sertoli hücresi (s), O x1000. **D:** Arteriol iç elastik membranında orsein-pozitif reaksiyon (oklar), Ox1000.

Figure 2. A: Dark (thin arrows) and light spermatogenic cells (double arrows), basement membrane (thick arrow), Leydig cell (arrowhead), sperm head (short arrow), TBx1000. **B:** PTAH-positive fibers (thin arrows) in interstitial region, a spermatogenic germ cell in metaphase (arrowhead), spermatocyte (thick arrow), spermatid (sp), Sertoli cell (s), PTAHx1000. **C:** Nuclear structures of spermatogenic cells are visualized. Anaphase (thin arrow), Prophase (thick arrow), spermatid (sp), Sertoli cell (s), Ox1000. **D:** Orcein-positive reaction on the inner elastic membrane of the arteriole (arrows), Ox1000.

Horozlarda oldukça kıvrımlı bir yapı olarak gösterilen ductuli efferentes epiteli (Janssen ve ark., 1998), Denizli horozunda da benzer yapıda izlenmiştir. Epitel katmanı, tavuk (*Gallus domesticus*), bildircin (*Coturnix coturnix japonica*), beçtavuğu (*Numida meleagris*) (Aire, 1980) ve yeşilbaş ördek (*Anas platyrhynchos*) (Simões ve ark., 2004) türlerinde bildirildiği gibi silyumlu ve silyumsuz prizmatik epitel hücrelerden yapıldır. Janssen ve ark. (1998) ile Kwon ve ark.

(1997)'nin ortaya koydukları gibi silyumsuz hücrelerin çekirdekleri bazalde, silyumlu hücrelerinin ise apikalde yer almaktadır. Bildircin'da, testis, rete testis ve ductuli efferentesle ilgili ışık mikroskopik bulgular (Korkmaz ve Özcan, 2011), çeşitli yabancı kuş türlerinde, bir seri tübülden oluştuğu bildirilen intrakapsular rete testis yapısı (Barker ve Kendall, 1984) ve ördeklerde tarif edilen epididimal bölge yapısı (Simões ve ark., 2004) Denizli horozundaki bulgularla genel olarak

benzerdir. Hindilerde de gösterildiği gibi (Bakst ve ark., 2007), seminifer tübüller arasındaki intersitisyel alanda yer alan yuvarlak çekirdekli Leydig hücreleri, TB boyama ile ayırt edilmiştir. Sperm kondansasyonu ve morfolojisi değerlendirilmelerinde, TB boyasının en ideal boyalardan biri olduğu bildirilmiştir (Aksoy ve ark., 2009). Bu çalışmada, TB boyası ile spermatogenik germ hücreleri yoğun olarak boyanmıştır. Hindilerde, bu boyama ile kromatin dağılımına ve çekirdek yapılarına göre, koyu, açık ve ikisi arasında boyanma gösteren üç tip spermatogenik hücre tarif edilmiştir (Bakst ve ark., 2007). Denizli horozu seminifer tübüllerinde de, TB ile farklı yoğunluklarda reaksiyon veren hücelere rastlanmıştır. Bazal membran üzerindeki koyu boyanan hücrelerin ana spermatogonyum, açık hücrelerin ise spermatositler olduğu söylenebilir.

Ekstraselüler matriksin, Sertoli hücrelerinin yapısının yanı sıra, bu hücrelerin bağlantılarının düzenlenmesinde de rol aldığı bildirilmiştir (Siu ve ark., 2003). Bazal membranın (Janssen ve ark., 1998) ve ekstraselüler matriksin temel bileşenlerinden olan kollajen ipliklerin ise, matriks organizasyonunda ve peritübüler hücrelerin farklılaşmasında önemli olabileceği öne sürülmüştür (Sawada ve Yazama, 1994). Dolayısıyla, özellikle spermatogeneziste ekstraselüler matriks'in rolünün anlaşılmasında, ekstraselüler matriks bileşenlerinin araştırılması önemli olabilir. Bu konuda, deve kuşunda, peritübüler dokuda, seminifer epitel altında kollajen iplikler gösterilmiştir (Ozegbe ve ark., 2008). Çalışmamızda, PTAH-pozitif fibril yapılar, intersitisyel alanda, kan damarlarının çevresinde ve bazal membranda gözlenmiştir. Anyonik bir boya olan PTAH ile boyama, kromatin yapının gösterilmesinde de kullanılabilen bir histokimyasal yöntemdir (Issidorides ve Katsorchis, 1981). Histon proteinlerinin bu boya ile reaksiyon vermesiyle, spermatogenik germ hücrelerinin çekirdek yapıları ayırt edilmiştir. Ayrıca, orsein boyama ile de

bu hücrelerin çekirdek yapıları gözlenmiştir. Bununla birlikte, seminifer tübülleri çevreleyen bazal membranda ve intersitisyel alanda elastik ipliklere rastlanılmamıştır. Ancak, arteriolün iç elastik membranında yoğun O-pozitif reaksiyon meydana gelmiştir. Bu yapıların damar duvarındaki elastik iplik yapılarına işaret ettiği söylenebilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada araştırılan Denizli horozu genital sistem yapılarının histolojisi, genel olarak diğer türlerle benzerlik göstermiştir. Bu çalışma, orijinal bir çalışma olarak literatüre ve türün tanıtımına katkıda bulunması bakımından önemli olabilir.

KAYNAKLAR

- Anonim 2006. T.C. Denizli Valiliği. Denizli Horozu. <http://www.denizli.gov.tr/denizli/horoz.htm> [Erişim: 14.03.2011]
- Anonim 2008. Powley J., Testis gelişimi ve fertilitte. Ross Tech. Note, http://www.rossanadolu.com/uploads/technic/123-841Testis_Geli_imi_ve_Fertilite.pdf [Erişim: 15.03.2011]
- Aire TA., 1979. Micro-stereological study of the avian epididymal region. *J Anat.*, 129, 703-706.
- Aire TA., 1980. The ductuli efferentes of the epididymal region of birds. *J. Anat.*, 130, 707-723.
- Aire TA., 1982. The rete testis of birds. *J. Anat.*, 135, 97-110.
- Aire TA., 1997. The structure of the interstitial tissue of the active and resting avian testis. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 64, 291-299.
- Aire TA., Soley JT., 2000. The surface features of the epithelial lining of the ducts of the epididymis of the ostrich (*Struthio camelus*). *Anat. Histol. Embryol.*, 29, 119-126.
- Aksoy FT., 1999. Tavuk yetiştiriciliği. Üçüncü Baskı, Şahin Matbaası, Ankara.

- Aksoy FT., Ertuğrul O., Atasoy F., Gürler Ş., Erdoğan M., 2000. A study on blood group alleles of Denizli Fowl. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 24, 431-434.
- Aksoy FT., Atasoy F., Onbaşlar EE., Apaydın S., 2002. Denizli ırkı günlük civcivlerde tüylenme özelliklerinden yararlanarak cinsiyeti belirleme olanakları. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 26, 567-575.
- Aksoy E., Aktan TM., Duman S., Dursunoğlu D., Cüce G., 2009. Farklı semen parametrelerinde ışık mikroskobu düzeyinde spermatozoa morfolojisi ve nükleer kondansasyon değerlendirmesi. Zeynep Kamil Tıp Bülteni, 40, 111-117.
- Atasoy F., Gürcan S., 2000. Bir Denizli tavuğu sürüsünde canlı ağırlık ve yumurta ağırlığı özellikleri. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 47, 265-269.
- Bakst MR., Akuffo V., Trefil P., Brillard JP., 2007. Morphological and histochemical characterization of the seminiferous epithelial and leydig cells of the turkey. Anim. Reprod. Sci., 97, 303-313.
- Bancroft JD., Stevens A., Turner DR., 1990. Theory of practice of histological techniques. Third Edition, Churchill Livingstone.
- Barker SGE., Kendall MD., 1984. A study of the rete testis epithelium in several wild birds. J. Anat., 138, 139-152.
- Ertuğrul O., 2006. Anadolu'nun özgün hayvanları: Sultan Tavuğu. Vet. Hekim Der. Derg., 77, 73-76.
- Harris HF., 1898. A new method of ripening haematoxylin. Micr Bull (Philadelphia), Dec: 47.
- Hess RA., Thurston RJ., 1977. Ultrastructure of the epithelial cells in the epididymal region of the turkey (*Meleagris gallopavo*). J. Anat., 124, 765-778.
- Hess RA., 2000. Oestrogen in fluid transport in efferent ducts of the male reproductive tract. Rev. Reprod., 5, 84-92.
- Issidorides MR., Katsorchis T., 1981. Dispersed and compact chromatin demonstrated with a new EM method: phosphotungstic acid hematoxylin block-staining. Histochemistry, 73, 21-31.
- Janssen SJ., Bunick D., Finnigan-Bunick C., Chen YC., Hess R., Bahr JM., 1998. Morphology and function of rooster efferent ductule epithelial cells in culture. Tissue Cell, 30, 554-561.
- Kaplan G., Aksoy FT., 2009. Denizli ırkı bir tavuk sürüsünde telek rengi özellikleri ve canlı ağırlığın incelenmesi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 56, 297-303.
- Karan M., Timurkaan S., Aydın A., 2006. Erişkin sincaplarda (*Sciurus vulgaris*) testislerin ışık mikroskopik yapısı. Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Vet. Derg., 20, 185-187.
- Kaya M., Yıldız MA., 2008. Genetic diversity among Turkish native chickens, Denizli and Gerze, estimated by microsatellite markers. Biochem. Genet., 46, 480-491.
- Keskin O., Tekin N., Akçay E., 1995a. Denizli horozlarında başlıca spermatolojik özellikler. Lalahan Hay. Arş. Enst. Derg., 35, 87-100.
- Keskin O., Tekin N., Yurdaydın N., Selçuk M., 1995b. Denizli horozu spermalarının farklı sulandırıcı ve kryoprotektanlarla dondurulması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 42, 373-379.
- Kırdağ N., 2007. Moleküler tekniklerin kanatlı filogenetik çalışmalarına uygulanması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş.
- Korkmaz D., Özcan Z., 2011. Bildircin (*Coturnix coturnix japonica*) erkek genital sisteminin yapısı üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 58, 79-84.
- Kwon S., Hess RA., Bunick D., Kirbyf JD., Bahr JM., 1997. Estrogen receptors are present in the epididymis of the rooster. J. Androl., 18, 378-384.
- Mallory FB., 1968. Pathological technique. Hafner, New York.
- Nomina Anatomica Veterinaria, Fifth Edition. Prepared by the International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (I.C.V.G.A.N.) and Authorized by the General Assembly of the World Association of the Veterinary Anatomists (W.A.V.A.). Knoxville, TN (U.S.A.) 2003. Published by the Editorial

- Committee. Hannover, Columbia, Gent, Sapporo. 2005.
- Ozegbe PC., Aire TA., Madekurozwa MC., Soley JT., 2008. Morphological and immunohistochemical study of testicular capsule and peritubular tissue of emu (*Dromaius novaehollandiae*) and ostrich (*Struthio camelus*). *Cell Tissue Res.*, 332, 151-158.
- Özdoğan N., Gürcan S., 2006. Denizli ve Gerze yerli tavuk ırklarında yumurta verimine ait bazı özellikler. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, 46, 13-21.
- Powley J., 2008. Testis gelişimi ve fertilité. Ross Tech. Note, http://www.rossanadolu.com/uploads/technic/123841Testis_Geli_imi_ve_Fertilite.pdf
- Sawada H., Yazama F., 1994. Type VI collagen in the rat testis: Monoclonal antibody, isolation, and localization during development. *Biol. Reprod.*, 50, 702-710.
- Simões K., Orsi AM., Artoni SMB., Da Cruz C., Schimming BC., Pinheiro PFF., 2004. Structural features of the epididymal region of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*). *Bras. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 41, 92-97.
- Siu MK., Lee WM., Cheng CY., 2003. The interplay of collagen IV, tumor necrosis factor-alpha, gelatinase B (matrix metalloprotease-9), and tissue inhibitor of metalloproteases-1 in the basal lamina regulates sertoli cell-tight junction dynamics in the rat testis. *Endocrinology*, 144, 371-87.
- Tingari MD., 1971. On the structure of the epididymal region and ductus deferens of the domestical fowl (*Gallus domesticus*). *J. Anat.*, 109, 423-435.
- Tingari MD., 1972. The fine structure of the epithelial lining of the excurrent duct system of the testis of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Q. J. Exp. Physiol.*, 57, 271-295.
- Tuncer PB., Kinet H., Özdoğan N., Demiral ÖÖ., 2006. Evaluation of some spermatological characteristics in Denizli cocks. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 3, 37-42.
- Türkyılmaz MK., Dereli E., Şahin T., 2005. Denizli tavuklarında bazı yumurta özellikleri ile yumurtaların kuluçka işlemi sırasındaki ağırlık kaybı üzerine bir araştırma. *YYÜ Vet. Fak. Derg.*, 16, 89-92.



Bir Ceylanda (*Gazelle gazelle*) Hidatid Kist Olgusu

Yavuz Selim SAĞLAM^{1✉}, Kübra Asena TERİM KAPAKİN¹, İbrahim BALKAYA²

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum.
2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum.

Özet: Bu çalışmada, bir ceylanda (*Gazelle gazelle*) rastlanan karaciğerdeki hidatid kist olgusunun patolojik ve parazitolojik bulguları tanımlandı. Çalışmanın materyalini, Erzurum Palandöken İlçe Belediyesi'ne ait yerel bir parkta barındırılırken ölü olarak bulunan ceylana ait karaciğer oluşturmuştur. Makroskopik olarak karaciğer oldukça sert kıvamda olup, hem visseral hem de pariyetal yüzeyinde diffuz dağılım gösteren, dışarı doğru taşkın ve yumuşak kıvamlı yoğun hidatik kist yapıları dikkati çekti. Bu kistlerin büyüklükleri 0.5 ile 2.5 cm arasında değişmekte olup, içleri sarımsı beyaz renkte sıvı ile doluydu. Kistlerdeki germinal membranlar ve kist sıvıları protoskoleks yönünden mikroskobik olarak incelendi ancak protoskolekslere rastlanılmadı. Karaciğer dokusunun mikroskobik incelemesinde, glisson kapsülünde aşırı kalınlaşma, fibrozis, pseudolobların oluşumu ile karakterize bir siroz tablosu ile birlikte parankimde yoğun kanama odakları ve parazite ait kist yapıları gözlemlendi. Kist duvarının çevresinde nekrotik alanlar, çok sayıda yabancı cisim dev hücreleri, epitelioid histiyosit, histiyosit, lenfosit ve eozinofilik hücre infiltrasyonu mevcuttu. Bu yapılar dıştan fibrosit ve fibroblastlardan oluşan fibröz bir kapsül ile çevrelenerek bir granülasyon dokusu şekillendirmişti. Yabani hayat yaşayan bir ceylanda gözlenen bu hidatik kist olgusu, ilgili literatür ışığında dünyada ikinci, Türkiye'de ise bildirilen ilk olgudur.

Anahtar kelimeler: Ceylan, Hidatik Kist, Karaciğer, Patoloji

Hydatid Cysts in a Gazelle (*Gazelle gazelle*): A case report

Abstract: In this study, pathological and parasitological findings of a hydatid cyst case in the liver of a gazelle were described. The study material was obtained from a gazelle, found as died a natural death while being kept in a local natural park belonging to the Palandoken Municipality, Erzurum. With regard to the macroscopic findings, the liver had a firm consistency along with dense cystic structures in soft consistency, spreading diffusely over both the visceral and parietal surfaces. The sizes of these cysts were ranging from 0.5 to 2.5 cm and full of liquid in yellowish-white colour. The germinal membrane and liquid of the cysts were examined microscopically for possible presence of the protoscolex, but no such structures were seen. Besides, the glisson's capsule being considerably thick, fibrosis, cirrhosis characterised by pseudolobulus formation, dense haemorrhagic foci on the parenchyma, as well as the cystic structures of the parasite were seen clearly on the liver. There were necrotic areas, many foreign body giant cells, epithelioid hystiocytes, hystiocytes, lymphocytes and eosinophilic cell infiltration around the cystic walls. These structures surrounded by a fibrous capsule, consisting of fibrocytes and fibroblasts were forming a granulation tissue. According to the current literature search, this case of hydatid cyst in a wild gazelle is the first case report in Turkey and the second in the world.

Key words: Gazelle, Hydatid Cyst, Liver, Pathology.

✉ Yavuz Selim SAĞLAM

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum, e-posta: yssaglam@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Echinococcus granulosus tarafından oluşturulan hidatidozis, önemli ekonomik kayıplara ve halk sağlığı problemlerine sebep olan, dünya çapında yaygın zoonoz bir hastalıktır (Eckert ve ark., 2002; Jenkins ve ark., 2005). Karnivorların ince bağırsaklarında bulunan *E. granulosus*'un larval dönemi olan hidatik kist'ler insan da dahil olmak üzere birçok evcil ve yabani ruminantın başta karaciğer ve akciğerleri olmak üzere diğer birçok organında gelişmektedir. Echinococcus cinsi içerisinde beşeri ve veteriner hekimlik yönünden önemli olan türler *E. granulosus* ve *E. Multi-ocularis*'tir (Milli ve Hazıroğlu, 1997; Eckert ve ark., 2002; Altıntaş, 2003). Türkiye'de hidatidozis hem insan hem de evcil ruminantlarda yaygın olarak görülmekte olup, özellikle de doğu illerinde hala yaygınlığını korumaktadır (Altıntaş, 2003; Şimşek ve ark., 2005; Kaplan ve Başpınar, 2009; Yılmaz ve ark., 2009). Hastalıkta enfekte organlarda tek ya da çok sayıda kiste rastlanmakta olup, bunların içi genellikle kist sıvı ile doludur (Milli ve Hazıroğlu, 1997).

Araçların akciğer ve karaciğerlerindeki kistler genellikle 5-10 cm. çapındadır ve klinik hastalık tablosu göstermezler. Mikroskopik olarak, olgunlaşmamış hidatik kistlerin çevresinde dev hücreleri, eozinofillerin de yer aldığı yangısal hücre infiltrasyonu ve bir granülasyon dokusu bulunur. Hidatik kist duvarı hücreden yoksun olup, hyalini dış ve ince sınırsız germinal iç tabakadan oluşur (Milli ve Hazıroğlu, 1997; Eckert ve ark., 2002). Bu çalışmada, bir ceylanda (*Gazelle gazelle*) rastlanan karaciğer hidatik kist olgusunun parazitolojik ve patolojik incelenmesi yapılarak bulgular tanımlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Olgu materyalini, Erzurum iline bağlı Palandöken belediyesine ait yerel bir parkta barındırılırken doğal yollardan ölen bir ceylana ait karaciğer oluşturmaktadır. Yoğun hidatik kist yapıları gözlenen ve tanı

amacıyla Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen organ, patolojik ve parazitolojik olarak incelendi. Karaciğerden alınan doku örnekleri % 10'luk tamponlu formaldehit içinde tesbit edilerek rutin doku takibine alındı ve parafine bloklandı. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksil-eosin (HE), Period Acid-Schiff (PAS) ve Masson's Trichrome metodu (MTC) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (Presnell ve Schreiber, 1997).

Makroskopik Bulgular

Karaciğer oldukça sert kıvamda olup, hem visseral hem de pariyetal yüzeyinde diffuz dağılım gösteren, dışarı doğru taşkın ve yumuşak kıvamlı kist yapıları dikkati çekti. Bu kistlerin büyüklükleri 0.5 ile 3.5 cm çapında değişmekte olup içleri sarımsı beyaz renkte sıvı ile doluydu (Şekil 1).

Mikroskopik Bulgular

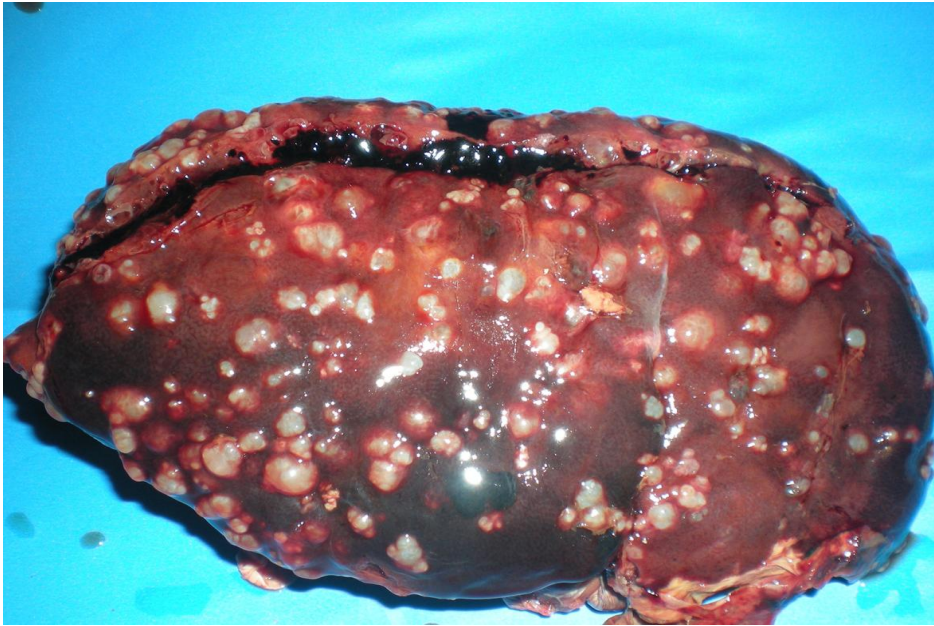
Kistlerdeki germinal membranların ve kist sıvılarının mikroskopik incelenmesinde protoskolekslere rastlanılmadı. Mikroskopik incelemede, karaciğer glisson kapsülünde aşırı kalınlaşma, fibrozis ve pseudolopların oluşumu ile karakterize bir siroz tablosu (Şekil 2) parankimde yoğun kanama odakları ve parazite ait kist yapıları gözlemlendi. Kist duvarının çevresinde nekrotik alanlar, çok sayıda yabancı cisim dev hücreleri, epitelioid histiyosit, histiyosit, lenfosit ve eozinofilik hücre infiltrasyonu mevcuttu. Bu yapılar dıştan fibrosit ve fibroblastlardan oluşan fibröz bir kapsül ile çevrelenerek bir granülasyon dokusu şekillendirmişti. (Şekil 3). Yapılan Period Acid-Schiff (PAS) boyamasında ise laminar tabaka pozitif boyandı (Şekil 4).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Echinococcus granulosus enfeksiyonunda sonkonak evcil ve yabani etçiller olmasına rağmen, etken farklı coğrafi bölgelerde sığır, koyun, keçi, geyik, deve,

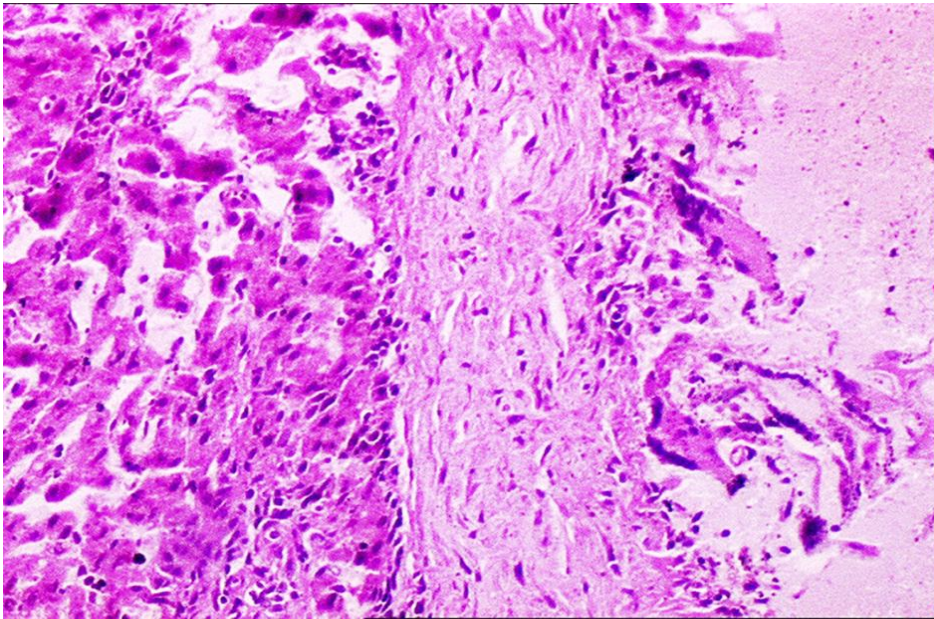
manda, tavşan, kanguru ve domuz gibi çok sayıda memeli arakonağı ve insanları enfekte edebilmektedir (Thompson ve Lymbery, 1988; Ütük ve ark., 2005). Ekinokokkoziste en yaygın gelişim şekli koyun-köpek sikludur (Milli ve Hazıroğlu, 1997; Ütük ve ark., 2005). Türkiye'de yapılan son çalışmalarda hastalığın prevalansı insanlarda 0.87–6.6/100.000 (Altıntaş, 2003), koyun ve sığırlarda ise % 70.9 ve % 46.4 (Arslan ve Umur, 1997), % 3.43–6.60 ve 0.94–4.16 (Kaplan ve Başpınar, 2009), % 28.94 ve % 6.06 oranında bildirilmiştir (Yılmaz ve

ark., 2009). Köpeklerde saptanan *E. granulosus* enfeksiyonunun prevalansı % 0.32–40 olarak rapor edilmiştir (Altıntaş, 2003). Ayrıca olgunun rastlandığı bölgede yetiştirilen sığırlarda hastalığın seroprevalansı % 35.1 (Simsek ve ark., 2005) olarak saptanırken, nadir yerleşimli kistik ekinokokoz olguları da rapor edilmiştir (Avcıoğlu ve ark., 2010). Yaban koyunu ve ceylanlarda İran ve Türkiye'de (Dalimi ve ark., 2002, Simsek ve Eroksuz, 2009), yaban keçisinde ise Türkiye'de rastlanıldığına ait raporlar bulunmaktadır (Ütük ve Pişkin, 2010).



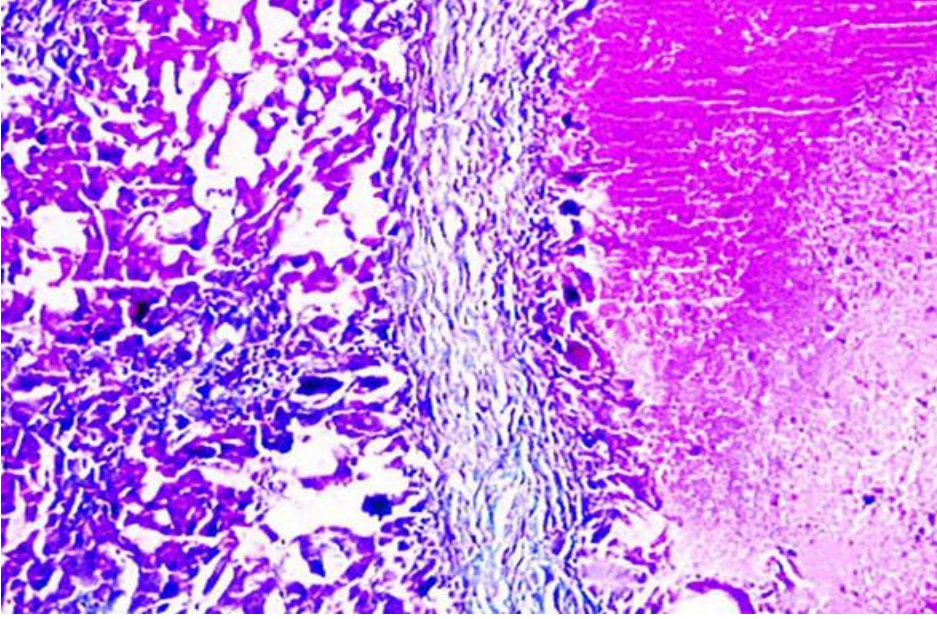
Şekil 1. Karaciğerin makroskopik görünümü.

Figure 1. Macroscopic appearance of the liver



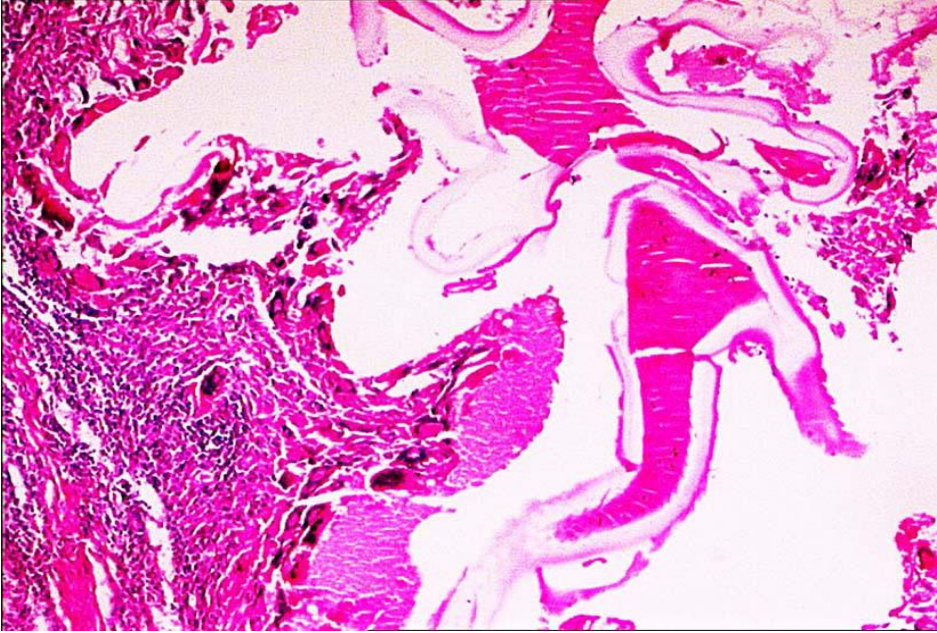
Şekil 2. Karaciğerde granülatöz odak ve dev hücreleri, HEx20.

Figure 2. Granulomatous foci and giant cells in the liver, HEx20.



Şekil 3. Granülatöz odağı saran bağ doku proliferasyonu, M.T.C, x10.

Figure 3. Connective tissue proliferation surrounding the granulomatous foci, M.T.C, x10.



Şekil 4. Laminar tabaka PAS pozitif, karaciğer, X10.

Figure 4. Laminar layer PAS positive, liver, X10

Bu vakada mikroskopik bakışı yapılan karaciğer kist sıvısı ve germinal membranında protozoklere rastlanılmamıştır. Karaciğerde gözlenen makroskopik ve mikroskopik bulguların ise literatürle (Milli ve Hazıroğlu, 1997; Avcıoğlu ve ark., 2010) ile uyumlu olduğu görülmüştür. Özellikle kist duvarının çevresinde nekrotik alanlar, yabancı cisim dev hücreleri, epitelooid histiyosit, eozinofilik hücre infiltrasyonu ve bu bulguları dıştan çevreleyen fibröz

kapsül varlığı ile karakterize bir granülasyon dokusu oluşumu gözlenmiştir. Son yıllarda hidatidoze karşı oldukça duyarlı yeni tanı yöntemleri ve etkili tedavi yaklaşımları geliştirilmiş olmasına rağmen hala bir çok ülkede önemli halk sağlığı problemidir (Eckert ve ark., 2002; Jenkins ve ark., 2005). Benzer şekilde Türkiye'de de bu enfeksiyondan korunmak amacıyla önlemler alınmasına rağmen hayvanlarda hastalığın görülmesinde bir azalmanın olmadığı bildirilmekte-

dir (Kaplan ve Başpınar, 2009; Yılmaz ve ark., 2009). Hidatik kist saptanan ceylanın, gösteri amaçlı olarak düzenlenmiş ortak kullanımlı bir park alanında evcil karnivor ve geniş getiren hayvanlar ile birlikte yaşamış olması parazitin bulaşmasında risk oluşturma-
cağını düşündürmüştür.

Bir ceylanda saptanan bu hidatik kist olgusu-
nun dünyada ikinci, Türkiye'de bildirilen ilk olgu
olması ve gözlenen patolojik bulgularının da
karakteristikliği sebebiyle literatüre kazandırılması
amacıyla yayınlanması önemli bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Arslan MÖ., Umur Ş., 1997. Erzurum mezbahalarında kesilen koyun ve sığırlarda hidatidozun yayılışı ve ekonomik önemi. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 3, 167-171.
- Milli ÜH., Hazıroğlu R., 1997. Veteriner Patoloji, 1. Cilt, Tamer matbaacılık, Ankara.
- Presnell J., Schreibman MP., 1997. Animal Tissue Techniques. 5th ed., The Johns Hopkins University Pres Ltd., London. pp. 269-271.
- Dalimi A., Motamedib GH., Hosseini M., Mohammadianc B., Malaki H., Ghamari Z., Ghaffari Far F., 2002. Echinococcosis / hydatidosis in western Iran. Vet. Parasitol., 105, 161-171.
- Eckert J., Deplazes P., Craig PS., Gemmell MA., Gottstein B., Heath D., Jenkins DJ., Kamiya M., Lightowers M., 2002. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. WHO/OIE Manualon Echinococcosis in Humans and Animals:a Public health Problemof Global Concern Edited by J. Eckert, M.A. Gemmell, F.-X. Meslin and Z.S. Pawłowski. WHO and OIE publishing.
- Altintas N., 2003. Past to present: echinococcosis in Turkey, Review article. Acta Tropica., 85, 105-112.
- Simsek S., Koroglu E., Dumanli N., Aktas M., Saki CE., Altay K., Utuk AE., 2005. Seroprevalance of cattle hydatidosis in some districts in the east Anatolian region of Turkey. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 29, 1305-1310.
- Ütük AE., Şimşek S., Köroğlu E., 2005. Echinococcus cinsinin möleküler genetik karakterizasyonu. T. Parazitol. Derg., 29, 171-176.
- Jenkins DJ., Romig T., Thompson RCA., 2005. Emergence/re-emergence of Echinococcus spp. a global update, Invited review. Int. J. Parasitol., 35, 1205-1219.
- Kaplan M., Baspınar S., 2009. Prevalence and Economic Significance of Cystic Echinococcosis among the Slaughtered Animals in Elazig.. J. of Anim. and Vet. Adv., 8, 1842-1845.
- Simsek S., Eroksuz Y., 2009. Occurrence and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Turkish mouflon (*Ovis gmelinii anatolica*). Acta Tropica, 109, 167-169.
- Thompson RCA., Lymbery AJ., 1988. The nature, extent and significance of variation within the genus Echinococcus. Adv. Parasitol., 27, 209-258.
- Yılmaz H., Cengiz ZT., Çiçek M., 2009. The Problem of Cystic Echinococcosis in Van Province. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 15, 607-610.
- Avcıoğlu H., Kapakin Terim K A., Balkaya İ., 2010. Sığırlarda Nadir Yerleşimli Kistik Ekinokokoz Olguları. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 16, 139-141.
- Ütük AE., Pişkin FÇ., 2010. Melez Bir Dağ Keçisinde Kistik Hydatidosis ve Moleküler Karakterizasyonu. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 16, 671-673.



Kuzeydoğu Anadolu'da Hayvanlarda ve İnsanlarda Myiasis

Murat KARA[✉], Mükremin Özkan ARSLAN

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kars.

Özet: Bu derlemede, Türkiye'nin kuzeydoğusunda ki hayvanlarda ve insanlarda myiasis etkenlerinin yayılışı, korunma ve kontrolü ile ilgili bilgi verilmiş ve eldeki veriler değerlendirilmiştir. Erzurum ilinde yapılan bir araştırmada, *Sarcophagidae* familyasına ait 17 tür bildirilmiştir. Kars ilinde iktisadi zarar açısından önemli olan *Hypoderma bovis*'in yaygınlığı sığırlarda % 31,9 olarak tespit edilmiştir. Enfeste hayvan başına düşen ortalama larva sayısı ise 8,46 olarak bulunmuştur. *Oestrus ovis*'e ise koyunlarda % 40,3 oranında rastlanılmıştır. Bu parazite ait ortalama larva sayısı muayene edilen hayvanlarda 1,8 iken, enfeste hayvanlarda 4,5 olarak bulunmuştur. Bölgedeki hayvanlarda görülen bu myiasis oranları hem Avrupa ülkelerine hem de Türkiye'nin batı bölgelerine göre yüksektir. İnsanlarda, ektoparaziter enfestasyonlar içerisinde myiasis Kuzeydoğu Anadolu'da da önemli bir yer tutmaktadır. Koyun ve sığır yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı bu bölgede hem meradakiler ve hem de ahır/ağıl çevresindeki insanlar myiasis riski altındadırlar. Bölgede ki insanlarda ve hayvanlarda fakültatif myiasis etkeni olarak en çok *Lucilia sericata* ve yanı sıra *Wohlfahrtia magnifica*'ya da rastlanmaktadır. Bölge genelinde sinek popülasyonunun yoğun olduğu Mayıs-Ekim ayları süresince klinik muayenelerde myiasis açısından hekimlerce dikkate alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: Hayvan, İnsan, Myiasis, Kuzeydoğu Türkiye.

Myiasis in Animals and Humans in Northeastern Anatolia

Abstract: In this review, information was given about the prevalence, distribution, protection and control of myiasis in animals and humans in Northeastern Turkey and the available data was evaluated. In a research, seventeen species belonging to the *Sarcophagidae* family were identified in Erzurum province. On the other hand, *Hypoderma bovis* is important for economic loss in Kars province and its prevalence was 31.9 %, while the mean number of warble fly larvae was 8.46 per infested animals. *Oestrus ovis* larvae were seen in 40.3 % of sheep in the latter province. The mean number of *O. ovis* larvae was 1.8 per animal examined, while it was 4.5 per animals infested. Myiasis rates of these animals in the area are higher than that of European countries as well as the western regions of Turkey. Ectoparasitic myiasis infestations in humans also has an important place in Northeastern Anatolia. The people around the barn and stables as well as in the grassland are at risk of myiasis because sheep and cattle breeding is done intensively in the region. Most of the times *Lucilia sericata* is the cause of facultative myiasis in humans and animals, as well as *Wohlfahrtia magnifica* is encountered occasionally in the area. Myiasis should be considered by the doctors during the clinical examination especially in the months of May and October in which the fly population throughout the region is concentrated.

Key Words: Animal, Human, Myiasis, Northeastern Turkey.

[✉] Murat KARA

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kars, e-posta: muratkara44@gmail.com

GİRİŞ

Diptera takımındaki bazı sineklerin larvalarının canlı doku ve organlarda yerleşerek patolojik lezyonlar oluşturmalarına myiasis adı verilir. Bu terim ilk defa Frederick William Hope tarafından 1840 yılında kullanılmıştır. Myiasis etkenleri Artropoda şubesi Diptera takımında yer alırlar. Larva enfestasyonu olarak tanımlanan myiasis larvaları yerleşim yerlerine göre kutanöz, subkutanöz ve kaviter; patojen ve oluşturduğu enfestasyonun çeşidine göre de çoğunlukla zorunlu (obligatör), isteğe bağlı (fakültatif) ve tesadüfi (accidental) olarak adlandırılır. İnsanlarda genellikle fakültatif ve rastlansal myiasis tipleri görülmektedir. Klinik olarak ise myiasis; kutanöz, eksternal, travmatik, furunkular, oftalmik, aural, kavikol, gastrikol, intestinal, ürogenital ve yara myiasisi olarak sınıflandırılır. Larvaların enfestasyon yaptığı anatomik organa göre klinik belirtiler ve lezyonlar konaklarda ortaya çıkmaktadır (Dinçer, 1997). İnsan ve hayvanlarda myiasis yaygınlığı Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de dikkati çeker boyutlardadır. Sığır, koyun ve keçi yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde mera döneminde yani yaz aylarında myiasis olguları artmaktadır. Myiasise sebep olarak gösterilen sinekler *Anisopidae*, *Calliphoridae*, *Cuterebridae*, *Gasterophilidae*, *Muscidae*, *Syrphidae*, *Phoridae*, *Piophilidae*, *Sarcophagidae*, *Oestridae*, *Hypodermatidae*, *Psychodidae* ailelerinde yer alırlar (Kettle, 1990; Daldal ve Atambay, 2007).

Bu makalede Kars ilinde yapılan çalışmalar ağırlıklı olmak üzere özellikle Kuzeydoğu Anadolu'da yapılan çalışmalar hakkında bilgi, ayrıca dünyada bu konuda korunma ve kontrol hakkında son gelişmeler değerlendirilmiştir.

HAYVANLARDA MYIASİS

Hayvanlar üzerinde Kuzeydoğu Anadolu'da myiasis etkeni olan diptera takımındaki sineklerde geniş kapsamlı çalışmalar yapılmamıştır. Yapılan çalışmalar biri hariç genellikle tür bazındadır. *Sarcophagidae*

(Diptera) faunasını belirlemek amacıyla Erzurum'da bir çalışma gerçekleştirilmiş ve toplam 17 tür belirlenmiştir (Pekbey ve Hayat, 2010). Örnekler, Erzurum Merkez, Aşkale, Çat, Ilıca, Köprüköy ve Pasinler ilçelerinden toplanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen türlerden *Blaesoxsipa (Servaisia) erythrura*, *Sarcophaga (Helicophagella) pachyura* ve *Sarcophila meridionalis* Türkiye faunası için yeni kayıttır. *Sarcophaga (Liopygia) argyrostoma*, *Sarcophaga (Liopygia) crassipalpis* ve *Ravinia pernix* ise bu ilde yaygın ve sık rastlanan türlerdir. Dünya'da yabancı ve evcil hayvanlarda yara myiasisi etkenleri içerisinde *Lucilia sericata* ilk sıralarda gelmektedir. Özellikle koyunlarda yara myiasis etiolojisinde *L. sericata* primer etkindir. Türkiye'de de eksternal myiasis sinekleri içerisinde *L. sericata* en yaygın türdür (Sevgili ve ark., 2004).

Her ne kadar kuzey doğuda olmasa da yine bir doğu ili olan Elazığ'da Şaki ve Özer (1999a,b) tarafından yapılan iki araştırma okura değerli bilgiler vermektedir. Şaki ve Özer (1999a) eksternal myiasis etkenlerini araştırmış ve Elazığ'da *Lucilia sericata*, *L. caesar*, *Calliphora vicina*, *C. vomitoria*, *Chrysomya albiceps*, *Wohlfahrtia magnifica*, *Sarcophaga haemorrhoidalis* ve *S. carnaria* olmak üzere sekiz tür saptamışlar, yine Şaki ve Özer (1999b) laboratuvarında morfolojik özelliklerine göre teşhis edilen sineklerin 7989'unun (% 76,52) *Lucilia sericata*, 35'inin (% 0,34) *L. caesar*, 540'inin (% 5,17) *Calliphora vicina*, 46'sinin (% 0,44) *C. vomitoria*, 1416'sinin (% 13,56) *Chrysomya albiceps*, 3'ünün (% 0,03) *Wohlfahrtia magnifica*, 233'ünün (% 2,23) *Sarcophaga haemorrhoidalis* ve 178'inin de (% 1,71) *S. carnaria* olduğunu bildirmişlerdir.

Kara ve ark., (2005) Kars iline bağlı 8 köyde 76 çiftlikte bulunan 1276 sığırın sırtları palpasyon yoluyla hypoderma larvalarının (Şekil 1) varlığı araştırılmıştır. Hypodermosisin yaygınlığı üzerindeki yaş, cinsiyet, renk ve ırk durumunun etkilerinin önemli olup olmadığı araştırılmış, larval enfestas-

yonun yaygınlığı muayene edilen sığırlarda % 31,9, enfeste hayvan başına düşen ortalama larva sayısı ise 8,46 olarak kaydedilmiştir. Çalışma yapılan tüm köylerde hypodermosis enfeksiyonunun yaygın olduğu, sürü içinde yaşlı hayvanların gençlere nazaran daha az enfestasyona yakalandığı, hypodermosiste enfestasyon oranları yerli sığırlarda, dişilerde ve benekli hayvanlarda daha az oranda tespit edildiği bildirilmiştir.

Arslan ve ark., (2009) Kars yöresindeki koyunlarda *Oestrus ovis* larvalarının (Şekil 2; 3) neden olduğu kavikol myiasis'in prevalansını belirlemek amacıyla Kars merkezdeki mezbaha ve kasaplarda kesimi yapılan koyunlardan her ay düzenli olarak alınan 30-35 koyun kafası (toplam 387) *O. ovis* larvaları yönünden incelenmiş, bakısı yapılan 387 kafatasının 156'sında (% 40,3) *O. ovis* larvalarına rastlandığını bildirmişlerdir. Koyunlarda nasal myiasis prevalansı ilkbaharda % 54,3, yazın % 41,0, sonbaharda % 28,0 ve kışın % 38,9 olup, oranlar arasında olduğu, enfestasyon oranı bir yaşına kadar olan hayvanlarda % 30,0, 1-3 arasındakilerde % 40,0 ve 3 yaştan büyüklerde % 52,4 olarak saptamışlardır. Ortalama larva sayısı muayene edilen hayvanlarda 1,8 iken, enfeste hayvanlarda 4,5 olup, enfeste

koyunlardaki *O. ovis* larva yoğunluğu 1-31 arasında değiştiği bildirilmiştir. Morkaraman ırkı koyunlarda enfestasyon oranı (% 43,4), akkaraman ırkı koyunlara göre (% 31,3) daha yüksek olduğu, oestrosis'in prevalansının koyu kafa renkli koyunlarda açık renklilere göre daha yüksek olduğu kaydedilmiştir.

Yukarıda bahsi geçen çalışmalara bakıldığında Türkiye'nin doğusunun genelde soğuk bir iklime sahip olmasına rağmen *Oestrus ovis* ve *Hypoderma sp.* gibi myiasis etkenlerinin Avrupa ülkelerine göre yüksek oranlarda bulunmasının sebepleri çeşitli nedenlerle açıklanabilir. Bunlardan en önemlisi hayvan sahiplerinin kontrolde bilinçli bir şekilde zamanında ve yeterli dozlarda tedaviye başlamaması veya hastalık sürüde telefata başlamadan hayvanları tedavi etmemeleridir. Diğer önemli bir sorun ise sinek veya diğer artropod kontrolünü bölgedeki bazı hayvan sahiplerinin bilinçli bir şekilde düzenli ve etkili olarak tedaviyi gerçekleştirmelerine karşın, aynı yerdeki veya aynı civardaki diğer çiftliklerinin kontrole veya tedaviye önem vermeyip duruma kayıtsız kalmaları sonucu myiasis etkeni sineklerle mücadele başarıya ulaşmamakta ve diğer hayvan sahiplerinin emekleri ve harcamaları da boşa gitmektedir.



Şekil 1. *Hypoderma sp.*, 3. dönem larvalar (orjinal).

Figure 1. *Hypoderma sp.*, 3rd stage larvae (original).



Şekil 2. *Hypoderma sp.*, *Gasterophilus sp.* ve *Oestrus ovis*'in 3. dönem larvaları (orjinal).

Figure 2. The 3rd stage larvae of *Hypoderma sp.*, *Gasterophilus sp.* and *Oestrus ovis* (original).

İNSANLARDA MYİASİS

İnsanlarda, ektoparaziter enfestasyonlar içerisinde myiasis Kuzeydoğu Anadolu'da da önemli bir yer tutmaktadır. Yaz aylarında insanların etrafında uçuşan erişkin myiasis sinekleri yumurta veya larvalarını insanların doğal boşlukları civarına ya da derisindeki yaralara bırakırlar. Bu durum çoğunlukla fakültatif ya da rastlansal olarak meydana gelmektedir. İnsan myiasis etiyolojisinde *Sarcophaga*, *Wohlfahrtia*, *Calliphora* ve *Lucilia* soyları önemli bir

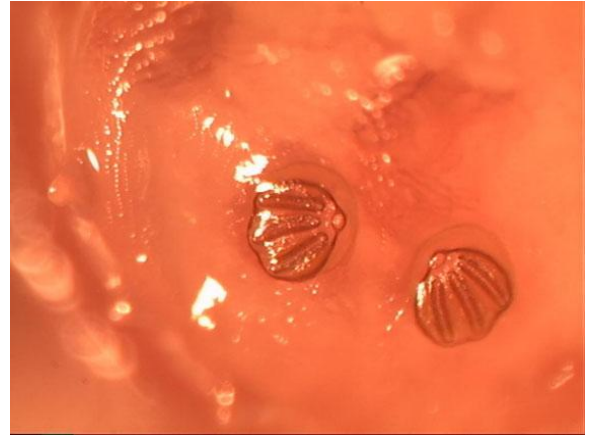


Şekil 3. *Oestrus ovis* larvaları, Soldan sağa sırasıyla L1, L2, L3 (orjinal).

Figure 3. The larvae of *Oestrus ovis*, from left to right L1, L2, L3, respectively (original).

Fakültatif bir ektoparazit olarak bilinen *Lucilia sericata*'nın sıklıkla hayvanlarda nadiren de olsa insanlarda açık yaralarda veya ağız, burun, göz gibi organlarda myiasis oluşturduğu bilinmektedir. Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesine bir insanda myiasis vakası gelmiş olup, bu durum tarafımızca vaka takdimi olarak hazırlanmıştır (Kılıç ve ark., 2011). Bu vakada, sağ meme kanseri nedeniyle ameliyat edilen 56 yaşında bir kadın hastada; operasyondan yaklaşık 10 ay sonra insizyon yerinde şişlik ağrı, kızarıklık ile ortaya çıkan yaklaşık iki hafta sonrada açık bir yaraya dönüşen, bir süre sonra da üzerinde sinek larvalarının (97 canlı larva) görüldüğü bir klinik tablo görülmüştür. Açık yara üzerinde ameliyathane şartlarında geniş cerrahi yaranın debridmanı ve tümör küçültücü işlemi yapılmıştır. Ameliyat sonrası üç hafta boyunca

yer tutar (Kettle, 1990; Dinçer, 1997). Bu sineklerin larvaları kokuşmakta olan artık ve kavrular üzerinde bulunabileceği gibi canlı doku ve organlarda da yerleşebilir. Özellikle kokuşmakta olan bakımsız yaralar erişkin sinekler için çok çekici olmaktadır. Myiasis sineklerine daha çok kırsal kesimlerde ve meralarda rastlanmaktadır. Özellikle koyun ve sığır yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde hem meradakiler ve hem de ahır/ağıl çevresindeki insanlar myiasis olguları görülme riski altındadırlar.



Şekil 4. *Lucilia sericata* L3 posterior stigması (orjinal).

Figure 4. The L3 posterior stigmata of *Lucilia sericata* (original).

günlük pansumanla takip edilen hastanın yarası kısmen küçüldüğü gözlenmiştir. Hasta medikal tedavi verilerek taburcu edilmiştir. Toplanan larvalar (L3) parazitoloji laboratuvarında yapılan mikroskopik incelemeler sonucu *L. sericata* olarak tanımlanmışlardır (Şekil 4). Bu olgunun görüldüğü Kars'ın Selim ilçesi mera hayvancılığının yaygın yapıldığı bir yöredir. Olgu, ameliyat sonrası yara pansumanı kendileri tarafından yapılan ve kırsal bölgede yaşayan hasta olması nedeniyle myiasis epidemiyolojisi ile örtüşmektedir.

"Kronik orta kulak iltihabı olan bir çocukta otomyiasis" isimli vaka takdiminde ise, hastaneye getirilen 8 yaşındaki bir çocukta 7 gün içinde 3 larvanın çıktığı bildirilmiş olup bu çocuğun 5 yıldır orta kulak iltihabından muzdarip olduğu bildirilmiştir. Hastanın dış kulak kanalı batticon ve vazelin ile

doldurularak 8 larva daha ortaya çıkarılmış ve parazitoloji laboratuvarına gönderilen larvalar incelendiğinde *Wohlfahrtia magnifica*'ya ait oldukları kaydedilmiştir.

Türkiye'de ise kronik otitis medialis çocuklarda *Wohlfahrtia magnifica*'nın yol açtığı otomyiasis (Akduman ve ark., 2010; Kılıç ve ark., 2011) ile kutanöz myiasis (Kökçam ve Şaki, 2005), bir kadında *Psychoda albipennis*'in neden olduğu ürogenital myiasis (Güven ve ark., 2008), Sarcophaga türlerine bağlı psöriatik artritler myiasis ve lokal nozokomiyal myiasis olguları bildirilmiştir (Yazar ve ark. 2005; Dağcı ve ark. 2008). Bunlara ilaveten diabetli bir hastada eksternal myiasis ile squamous cell karsinomlu bir hastada yara myiasisi olgularında *L. sericata* larvaları identifiye edildiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Gödekmerdan ve ark. 2001; Namazi ve Fallahzadeh, 2009).

SONUÇ

Türkiye'nin subtropikal bölgede bulunduğundan myiasis açısından risk altında olduğu aşikârdır. Hayvanlarda yaptıkları tahribat ve iktisadi kayıplara neden olan vakaları azaltmak için Türkiye'de, Azerbaycan'ın parçası komşu Nahçıvan'da ve dahi Ermenistan, Gürcistan ve İran gibi komşu ülkelerde myiasise sebep olan sinek faunası teferruatlı olarak tespit edilmelidir. Ayrıca hastalıklı hayvanlar kaynak teşkil etmemeleri için tedavi edilmeli, bu sineklerin üreyecekleri kadavra, hayvan gübresi, çöp gibi maddeler süratle ortadan kaldırılmalıdır. İnsan myiasisinin önlenmesi için ise özellikle kırsal bölgede yaşayanlar ve koyun, keçi ve sığır yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde meralarda bulunanlar ile hasta, bakımsız kişiler ve çocuklar myiasis enfestasyonu vakaları ile risk altındadırlar. Özellikle ameliyat sonrası ya da herhangi bir nedenle vücudun dış kısmındaki yara bakımı yapılan insanlar daha predispoze konumdadırlar. Bu nedenle sağlık merkezlerine uzak yerlerde bulunan ve yara bakımı yapılan hastaların pansuman işlemlerini sağlık merkezlerinde yaptırmaları ve genel hijyen kuralları-

na uymaları gerekir. Bunlara ilaveten ülkemiz genelinde sinek popülasyonunun yoğun olduğu Mayıs-Ekim ayları süresince klinik muayenelerde myiasis açısından hekimlerce dikkate alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- Akduman D., Arslan MO., Gul S., 2010. A case of otomyiasis in a child with chronic otitis media. Int. J. Pediatr. Extra, 6, 116-118.
- Arslan M.O., Kara M., Gıcık Y., 2009. Epidemiology of Oestrus ovis infestations in sheep in Kars province of the north-eastern Turkey. Trop. Anim. Health Prod., 41, 299-305.
- Bayındır T., Miman Ö., Miman MC., Atambay M., Şaki CE., 2010. Bilateral aural myiasis (*Wohlfahrtia magnifica*): A case with chronic suppurative otitis media. Türkiye Parazitol. Derg., 34, 65-67.
- Dağcı H., Zeyrek F., Gerzile YK., Sahin SB., Yagcı S., Üner A., 2008. A case of myiasis in a patient with psoriasis from Turkey. Parasitol. Int., 57, 239-241.
- Daldal N., Atambay M., 2007. Myiasis (Miyaz). Özcel MA. eds. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, s. 867-881.
- Dinçer Ş., 1997. İnsan ve Hayvanlarda Myiasis. Özcel MA., Daldal N. eds Parazitolojide Artropod Hastalıkları ve Vektörler., Türkiye Parazitol. Dern Yay No: 13, İzmir, s. 169-234.
- Gödekmerdan A., Kaplan M., Burma S., Kuk S., Saral Y., 2001. Diabetli bir hastada saptanan eksternal miyazis: Olgusu. Türkiye Parazitol. Derg., 25, 72-74.
- Güven E., Kar S., Doğan N., Karaer Z., 2008. Bir kadında *Psychoda albipennis*'in neden olduğu ürogenital myiasis. Türkiye Parazitol. Derg., 32, 174-176.
- Kara M., Arslan MÖ., Gıcık Y., 2005. The prevalence of Bovine Hypodermosis in Kars province. Trop. Anim. Health Prod. 3, 617-622.
- Kettle DS., 1990. Medical and Veterinary Entomology. CAB International, Wallingford, s. 241-261.
- Kılıç K., Arslan MÖ., Kara M., 2011. Kars'ta bir kadında *Lucilia sericata*'nın (Diptera: Calliphoridae) neden

- olduğu postoperatif yara myiasisi. *Türkiye Parazitol. Derg.*, (Baskıda).
- Kökçam I, Şaki CE., 2005. A case of cutaneous myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. *J. Dermatol.*, 32, 459-463.
- Namazi M., Fallahzadeh MK., 2009. Wound myiasis in a patient with squamous cell carcinoma. *Scientific World J.*, 1, 1192-1193.
- Pekbey G., Hayat R., 2010. Faunistic studies on the family Sarcophagidae (Diptera) species from Erzurum province (Turkey). *Turkish J. Entomol.*, 34, 263-275.
- Sevgili M., Şaki CE., Özkutlu Z., 2004. Şanlıurfa yöresinde tespit edilen external myiasis sineklerinin yayılışı. *Türkiye Parazitol. Derg.*, 28, 150-153.
- Şaki E., Özer E. 1999a. Morphology and development of several external myiasis larvae recorded in Elazığ. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 23, 723-731 Suppl. 4.
- Şaki E., Özer E. 1999b. Morphology and seasonal distributions of external myiasis flies determined in Elazığ province. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 23, 733-746 Suppl. 4.
- Yazar S., Dik B., Yalçın Ş., Demirtaş F., Yaman O., Öztürk M., Şahin İ., 2005. Nosocomial oral myiasis by *Sarcophaga* sp. in Turkey. *Yonsei Med. J.*, 46, 431-434.



Cronobacter sakazakii'nin Gıda Mikrobiyolojisindeki Önemi

Ahmet GÜNER, Nihat TELLİ ✉

Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya.

Özet: *Cronobacter sakazakii* birçok yaş grubunda farklı enfeksiyonlara (örn., pnömoni, konjunktivitis, apandisit) sebep olmakla birlikte, özellikle yeni doğan bebeklerde ve çocuklarda menenjit, nekrotik enterokolitis ve bakteriyemiye neden olan bir patojendir. Toz bebek mamalarının tüketimine bağlı olarak son yıllarda yaşanan sağlık sorunları, dünya genelinde toz bebek mamaları üzerine artan sayıda araştırmalar yapılmasına neden olmuştur. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki sağlık kuruluşlarını, toz bebek mamaları ile beslenen yeni doğan bebeklerde *C. sakazakii*'den kaynaklanan enfeksiyonun varlığı hakkında uyarmıştır. Toz bebek mamaları üzerinde yoğunlaşan uluslar arası hassasiyet üzerine, 2004 yılında Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) neonatal enfeksiyonlar ve toz bebek mamaları ile ilişkili mikroorganizmalar konusunda bir risk yaklaşımı görevini üstlenmişler ve *Cronobacter* spp ve *Salmonella* spp.'yi hijyen kalitesi olarak kategorize etmişlerdir. Bununla birlikte *C. sakazakii*, et, sebze, peynir, tohum, baharat olmak üzere birçok gıdada da tespit edilmiştir. Toz bebek formüllerinde uzun süre canlı kalabilmesinin yanı sıra, tahıl kökenli bebek devam mamalarının, bazı taze meyve ve sebzelerin *C. sakazakii*'nin üremesini desteklemesi ayrıca önem arz etmektedir. Fırsatçı bir patojen olan *C. sakazakii*'nin sebep olacağı gıda kaynaklı enfeksiyonlara karşı başlıca koruyucu önlemler, ısı işlemlerde etkinliğin sağlanmasının yanı sıra, üretim yeri çevresinden ısı işlem sonrası meydana gelebilecek kontaminasyonları ortadan kaldırma yönünde olmalıdır.

Anahtar kelimeler: Besin Mikrobiyolojisi, *Cronobacter sakazakii*, Güvenli Gıda.

The Importance of *Cronobacter sakazakii* in Food Microbiology

Abstract: *Cronobacter sakazakii* causes various infections (i.e., pneumonia, conjunctivitis, appendicitis) in most of the age groups and it mostly causes meningitis, necrotic enterocolitis and bacteremia in newborns and children. In recent years there are increasing amount of researches for infant formulas in all of the world because of health problems depending on the consumption of infant formulas. Food and Drug Administration (FDA) has warned the medical centers in USA about *C. sakazakii* infections for newborns that fed with infant formula. As a result of the international growing concern about infant formulas, Food and Agriculture Organizations and World Health Organization (FAO/WHO) have assumed a risk approach mission about microorganisms associated with infant formulas and they have categorized *Cronobacter* spp and *Salmonella* spp as a hygen quality. Additionally *C. sakazakii* has been isolated from various foods such as meat, vegetables, cheese, seed and spices. In addition to surviving for a long time in powdered infant formula, it is also important that powdered infant cereals, some vegetables and fruits support the growth of *C. sakazakii*. The main preventive precautions against foodborne infections caused by opportunistic pathogen *C. sakazakii* are to provide efficient heat treatment and to prevent possible contaminations from production environment that could occur after the heat treatment.

Key words: Food Microbiology, *Cronobacter sakazakii*, Safe Food.

GİRİŞ

Cronobacter sakazakii, birçok yaş grubunda çeşitli enfeksiyonlara (örn., pnömoni, konjunktivitis, apandisit) sebep olmakla birlikte (Bowen ve Braden, 2008) özellikle yeni doğan bebeklerde ve çocuklarda menenjit, beyin apseleri ve bakteriyemi vakalarından sorumludur (Nazarowec-White ve Farber, 1997a). Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration-FDA) (2002a), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki sağlık kuruluşlarını, toz bebek mamaları ile beslenen yeni doğan bebeklerde *C. sakazakii*'den kaynaklanan enfeksiyonun varlığı hakkında uyarmıştır. Gıdaların Mikrobiyolojik Özellikleri Uluslararası Komisyonu (International Commission on Microbiological Specifications for Foods-ICMSF), 2002 yılında *C. sakazakii*'yi bağışıklık sistemi zayıf insanlar için şiddetli tehlike, yaşamı tehdit eden, kalıcı kronik sekel bırakan etken olarak bildirmiş (Iversen ve Forsythe, 2003; Liu ve ark., 2007) ve bilinen su ve gıda kaynaklı *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* tip A ve B ve *Cryptosporidium parvum* gibi patojenlerle aynı tehlike kategorisinde sınıflandırmıştır (Iversen ve Forsythe, 2003). Kodeks Gıda Hijyeni Komitesi (Codex Alimentarius Food Hygiene Commission) tarafından 2003 yılında gerçekleştirilen toplantıda; toz bebek mamalarının mikrobiyolojik güvenliği ile ilgili sorunların uluslararası düzeyde arttığı gündeme getirilmiştir. Bunun üzerine Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization-FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO) tarafından 2004 yılında düzenlenen, toz bebek mamalarında *C. sakazakii* ve diğer mikroorganizmalar konulu uzmanlar toplantısında, mikrobiyolojik tehlikeler üç grup olarak düzenlenmiştir. Buna göre *Salmonella enterica* ve *C. sakazakii* Grup A'da, diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri Grup B'de ve o ana kadar toz bebek mamalarından izole edilemeyen *Bacillus cereus*, *Clostridium difficile* ve *Clostridium botulinum* Grup C'de sınıflandırılmıştır (Farber ve ark., 2008). Böylece, *Cronobacter* spp ve *Salmonella* serovarları toz bebek

mamalarının en önemli hijyen indikatörü olarak kategorize edilmiştir (Hurrell ve ark., 2009). *C. sakazakii*, 2004 yılında yirmi üçüncü ISO/TC 34 SC 9 ve onbirinci CEN/TC 275/WG 6 toplantısında, *Mycobacterium paratuberculosis* ile dikkat çekici tehlikeli bakteriyel patojenler olarak çalışma grubunun programına alınmıştır (Skovgaard, 2005).

C. sakazakii et, sebze, peynir, tohum, kuru ot, baharat olmak üzere birçok gıdada tespit edilmiş olmasına (Iversen ve Forsythe, 2004) rağmen gıda kaynaklı *C. sakazakii* enfeksiyonlarına sık rastlanmamaktadır (Lampel ve Chen, 2009). Buna karşın, bakterinin toz bebek mamalarındaki varlığı, yeni doğan bebeklerde bağışıklık sisteminin gelişmemiş olması (Iversen ve Forsythe, 2004) ve enfekte bebeklerde gözlemlenen yüksek mortaliteden (%40-80) (Lampel ve Chen, 2009) dolayı daha fazla önem arz etmektedir. Özellikle yeni doğan bebeklerde *C. sakazakii*'nin sebep olduğu enfeksiyonların kaynağı ve bulaşma şekli tam olarak bilinmese de, toz bebek mamalarının neonatal menenjitlerin başlıca sebebi olduğu ileri sürülmüştür (Nazarowec-White ve Farber, 1997c; Nazarowec-White ve Farber, 1999).

TAKSONOMİSİ

Enterobacteriaceae familyasında heterojen ve geniş bir grubu temsil eden *Enterobacter* soyundaki türler son yıllarda artan bir şekilde patojen olarak tanımlanmışlardır. Günümüze kadar 14 tür taksonomik olarak kabul edilmiştir. Bunlardan *Enterobacter cloacae* kompleksindeki 9 tür ile *C. sakazakii* ve *Enterobacter gergoviae*, insanlarda genellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan başlıca türlerdir (Dauga ve Breeuwer, 2008).

Pangalos 1929 yılında bir bebekte septiseminin sebebi olarak sarı renkli pigment oluşturan bir koliform bakteri rapor etmiştir (Gurtler ve ark., 2005). *C. sakazakii*, menenjitin etkeni olarak ilk kez Urmeyni ve Franklin tarafından rapor edilmiştir. Önceleri sarı pigment oluşturan *E. cloacae* olarak

bilinen bakteri için 1980 yılında Farmer ve ark tarafından *E. sakazakii* adı önerilmiştir. Tür adını Japon mikrobiyolog Riichi Sakazaki'den almıştır (Gurtler ve ark., 2005). Bakterinin 1980 yılına kadar 15 serovarı tespit edilmiş ve bu serovaryaların birçok türü temsil edebileceği bildirilmiştir (Farmer ve ark., 1980). Bu serovaryaların birçok türü temsil edebileceği bildirilmesine rağmen 2007 yılına kadar, *Enterobacter* soyunda *E. sakazakii* olarak bilinen bir bakteri türüdür. Bu tarihten itibaren, (Iversen ve ark., 2007), DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları ile *E. sakazakii*'yi beş genomik türe ayırmışlar ve *E. sakazakii*'nin *Cronobacter* soyunda yeniden klasifiye edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Iversen ve ark., (2008), Farmer'ın orjinal biyogruplarından 1-4, 7, 8, 11 ve 13'ü *Cronobacter sakazakii*, biyogruplardan 5, 9 ve 14'ü *Cronobacter malonaticus*, grup 15'i *Cronobacter muytjensii*, biyogruplardan 6, 10 ve 12'yi *Cronobacter dublinensis* (biyogrup 12 *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis*, biyogrup 6 *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp.), daha sonra tanımlanan grup 16'ya iki suşu hariç *Cronobacter turicensis* ve hariç tutulan bu iki suşu ise *Cronobacter genomospecies* 1 olarak yeniden sınıflandırmışlardır.

FENOTİPİK ve GELİŞME ÖZELLİKLERİ

C. sakazakii; Gram pozitif, çubuk şekilli, peritrik flajellarıyla hareketli, fakültatif anaerob, *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan patojen bir bakteridir (Al-Holy ve ark., 2008; Nazarowec-White ve Farber, 1997a). *C. sakazakii* 25°C'de veya oda sıcaklığında inkübe edildiği zaman parlak sarı renkli sıkı-sert yapıda koloni özelliğine sahiptir. *C. sakazakii* iki farklı morfolojiye sahip koloni oluşturur (Iversen ve Forsythe, 2003; Gurtler ve ark., 2005). Bir koloni tipi kuru veya mukoid, sıkı-eleastiki yapıda, diğer koloni tipi ise düz ve yumuşak bir yapıdadır (Gurtler ve ark., 2005). İdentifikasyonun daha ileri aşamalarında pozitif dekarboksilaz (lizin negatif, arjinin ve ornitin pozitif) ve negatif sorbitol reaksiyonları ile tanınabilmektedir (Farmer ve ark., 1980).

C. sakazakii'nin generasyon süresi 23 °C'de 40 dakika, 10 °C'de'de 4 saat 54 dakikadır. Gerek klinik örneklerden gerekse gıdalardan elde edilen *C. sakazakii* izolatlarının değişik besiyerlerinde üreme ve canlılığının incelendiği çalışma sonuçlarına göre en düşük 5,5-8,0 °C'de ürettiği, 4 °C'de üremenin gerçekleşmediği ve bu sıcaklık derecesinde yapılan depolama sırasında canlılığını kaybettiği bildirilmiştir (Nazarowec-White ve Farber, 1997b). Buna karşın, gelişme özellikleri, ısı toleransı ve bakterinin biofilm oluşturma özelliklerinin incelendiği araştırmada buzdolabı sıcaklık değerlerinde tutulan bebek mamasının hazırlandığı alet ve ekipmanlarda *C. sakazakii*'nin ürettiği bildirilmiştir (Iversen ve ark., 2004b).

Iversen ve ark. (2004b), sulandırılmış toz bebek mamalarında 62 °C'de D değerini 0.4 dakika, Z değerini ise 5.7°C olarak belirlemişlerdir. Nazarowec-White ve Farber (1997c), sulandırılmış toz bebek mamalarında 52, 54, 56, 58 ve 60 °C'de D değerlerini sırasıyla 54.8, 23.7, 10.3, 4.2 ve 2.5 dakika olarak tespit etmişlerdir. pH 7,0'deki ısı direncinin pH 4,0'dekine göre 10 kat fazla olduğu tespit edilmiştir (Arroyo ve ark., 2009).

Yüksek ozmotik basınç ve kuru ortamlara oldukça dirençlidir ve kuru ortamlarda 2 yıldan fazla yaşayabilir (Osaili ve Forsythe, 2009). Mezofil sıcaklık derecelerinde 1M NaCl konsantrasyonlarına kadar gelişme gösterebilir. 45°C'de 0.5M NaCl varlığında optimum üremeye devam ettirmektedir (Dauga ve Breeuwer, 2008). Su aktivitesinin 0,96'ya düşmesiyle pH 4,0 değerlerine sahip ortamlarda ortaya çıkan direncin pH 7,0'deki yüksek su aktivitesi değerlerine (>0.96) sahip olanlara göre 32 kat arttığı bildirilmiştir (Arroyo ve ark., 2009). Nitekim, toz bebek mamalarındaki kontaminant *C. sakazakii* sayısının depolama sırasındaki seyri bakımından yapılan çalışmada, inokule edilen *C. sakazakii* sayısının +4 °C'de yapılan depolama sırasında farklı su aktivitesi değerlerine sahip bebek mamalarında önemli bir farklılığın oluşmadığı; 21 °C'de depolama sırasında 0.44 su aktivitesi değerine sahip mamalar-

daki bakterinin 6 ayda tespit edilebilir sayıların altına düştüğü, 0.31 ve 0.26 su aktivitesi değerine sahip olanlarda 12 ay sonunda 5 log kob/g'dan 3 log kob/g'a düştüğü; 30 °C'de depolama sırasında 0.44 su aktivitesi olanlarda 3. ay, 0.31 su aktivitesi olanlarda 9 ay ve 0.26 su aktivitesi olanlarda 12 ay sonunda tespit edilebilir seviyelerin altında kaldığı saptanmıştır (Beuchat ve ark., 2009).

ENFEKSİYON TABLOSU ve PATOJENİTESİ

C. sakazakii başlıca menenjit, bakteriyemi, üriner sistem ve yara enfeksiyonunun yanı sıra pnömoni, konjunktivitis, vajinitis, apandisit, yeni doğanlarda nekrotik enterokolitis vb enfeksiyonların etiolojisinde yer alır (Bowen ve Braden, 2008). Birçok yaş grubunda farklı enfeksiyonlara sebep olmakla birlikte özellikle yeni doğan bebeklerde ve çocuklarda menenjit, beyin apseleri ve bakteriyemiye sebep olduğu bildirilmiştir (Farmer ve ark., 1985; Gurtler ve ark., 2005).

Lai (2001), 1960 yılından 1999'a kadar yaptığı literatür taramasında, yeni doğan, bebek ve küçük çocuk hastalarda kayıtlara geçmiş 31 *C. sakazakii* enfeksiyon vakasından 21'inin menenjit, 7'sinin bakteriyemi, 1'inin üriner sistem enfeksiyonu, 1'inin diyare, 1 tanesinin ise dermoid kist olduğunu bildirmiştir.

İlk defa İngiltere'de sarı pigment oluşturan *E. cloacae*'nin sebep olduğu menenjit vakaları daha sonra Avrupa'nın farklı ülkelerinden de bildirilmiştir (Iversen ve Forsythe, 2003). Willis ve Robinson (1988) 8 günlük ve 4 haftalık iki bebekte *C. sakazakii*'nin neden olduğu menenjit vakasını, Biering ve ark., (1989) üç neonatal enfeksiyonun görüldüğü iki bebeğin beyninin sol tarafının zarar gördüğünü bildirmişlerdir.

Nekrotik enterokolitis, değişik patojen bakterilerin sebep olduğu yeni doğan bebeklerde çok yaygın görülen önemli bir gastrointestinal rahatsızlıktır (Iversen ve Forsythe, 2003). van Acker ve ark., (2001) nekrotik enterokolitis gelişen 12 bebeğin

altısında *C. sakazakii*'nin izole edildiğini bildirmişlerdir.

C. sakazakii'nin neden olduğu bakteriyemi bütün yaş gruplarında meydana gelmiştir (Bowen ve Braden, 2008). Burdette ve Santos (2000), septisemi belirtisi olan 6 günlük bir çocuğun kan, idrar, serebrospinal sıvı ve beyindeki abseden alınan purulent sıvıdan *C. sakazakii*'nin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu bakterinin yetişkinlerde neden olduğu enfeksiyon nadir olarak bildirilmiştir. Bakteriyemi şüphesiyle hastaneye yatırılan 75 yaşındaki bir hastanın kanından (Hawkins ve ark., 1991) ve değişik yaş gruplarındaki insanların spinal sıvı, kan, yara ve solunum sisteminden alınan örneklerden yapılan kültürlerde *C. sakazakii*'nin izole edildiği bildirilmiştir (Farmer ve ark., 1985)

C. sakazakii'nin patojenik mekanizması yada virulens faktörleri ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır (Nazarowec-White ve Farber, 1997a). *C. sakazakii*'nin toksin benzeri bileşikler ürettiği ve süt emen farelere 10^3 ve 10^5 düzeylerinde oral ve intraperitoneal yolla verildiği zaman patojenik etki gösterdiği bildirilmiştir (Nazarowec-White ve Farber, 1997a). Ayrıca proteaz, fosfataz ve lipaz aktivitelerinin, *C. sakazakii* enfeksiyonu sırasında hücre ölümlerine yol açtığı, üremenin farklı fazlarında insan epiteline adhezyon özelliğinin olduğu, Caco-2 hücrelerine tutunma ve invaze olma özellikleri gösterdiği tespit edilmiştir (Pagotto ve ark., 2008). *C. sakazakii*'nin minimum enfeksiyon dozu tam olarak tanımlanmasa da (Iversen ve Forsythe, 2003), *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 4b ve *Neisseria meningitidis* için bildirilen sayının (yaklaşık 1000 bakteri), bu bakterinin minimum enfeksiyon dozu olarak kabul edilebileceğini ileri sürmüşlerdir. Enfeksiyöz doz, bakterinin stres faktörlerine maruz kalıp kalmamasına ve bakteriyi alan kişinin sağlıklı veya bağışıklık sisteminin zayıf olup olmasına bağlı olarak değişebilir (Iversen ve Forsythe, 2003). Kontamine parçalayıcı veya kaşık gibi bakteri sayısı yüksek alet ve ekipmanların kullanılması vb yetersiz hijyen koşullarında enfeksiyon riski artmaktadır

(Iversen ve Forsythe, 2003). Ayrıca yeni doğanlar, özellikle çok düşük doğum ağırlıklı (1500 gramdan düşük) bebekler, bağışıklık sistemlerinin tam gelişmemesinden dolayı çok daha duyarlıdır. Bunların yanı sıra antibiyotik uygulaması ve intestinal travma riski artıran durumlardır (Towsend ve Forsythe, 2008).

ENFEKSİYONUN KAYNAKLARI ve İNSİDENSİ

Doğal çevresi tam olarak bilinmemesine rağmen, çevrede oldukça yaygın bir bakteridir (Kandhai ve ark., 2004a; Al-Holy ve ark., 2008; Kandhai ve ark., 2010; Wan-Ling ve ark., 2010). *C. sakazakii*'nin epidemiyolojisi enfeksiyonun sık gözükmemesi ve birçok ülkede rapor edilmemesine bağlı olarak tam manasıyla anlaşılabilir (Bowen ve Braden 2008). Aynı araştırmacılar bu bakterinin yeni doğan bebekler ve bağışıklık sistemi zayıf kişilerdeki insidensinin (1/100.000) diğer yaş gruplarına göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Klinik Kaynaklar

C. sakazakii serebrospinal sıvı, kemik iliği, tükürük, idrar, yangılı apendiks, sindirim ve solunum sistemi, göz, kulak, yara, dışkı ve hastane ortamından izole edilmiştir (Nazarowec-White ve Farber, 1997c; Nazarowec-White ve Farber, 1999). Nekrotik enterokolitis gelişen 12 bebeğin mide sıvısı, anal swab ve kan örneklerinden yapılan kültürlerde geliştiği (van Acker ve ark., 2001), buna karşın 93 yeni doğan bebeğin dışkı, kan ve serobrospinal sıvı örneğinde *Cronobacter* spp. tespit edilmediği bildirilmiştir (Hoque ve ark., 2010).

Çevresel Kaynaklar

Bakterinin sağlıklı insan tarafından fekal yolla bulaşması henüz bildirilmemiştir (Forsythe, 2005). Koliform bakterisi olan *Escherichia coli*'nin başlıca bulaşma yolu fekal kaynaklı olmasına rağmen, diğer koliform bakterilerinde olduğu gibi *C. sakazakii*'de çevresel kaynaklar vasıtasıyla bulaşabilir (Gurtler ve

ark., 2005). Toprak, su ve sebzeler başlıca kontaminasyon kaynaklarıdır. Ratlar ve sinekler kontaminasyonun diğer kaynakları olarak kabul edilir (Nazarowec-White ve Farber, 1997c; Nazarowec-White ve Farber, 1999).

Kandhai ve ark., (2004a), toz bebek maması üreten dokuz fabrikanın sekizinde, 16 evin beşinde, ayrıca üretimin yapıldığı hat boyunca ve fabrikalardaki bütün çevresel kaynaklarda, farklı düzeylerde *C. sakazakii* tespit etmişlerdir. Kandhai ve ark., (2004b) üç süt tozu üretim fabrikasının zemininden, kurumuş kazıntılardan ve vakumlu temizlik torbalarından aldıkları 152 örneğin 18 tanesinde *C. sakazakii*'nin varlığını belirlemişlerdir. Reich ve ark., (2010) toz bebek maması üreten bir işletmenin vakumlu temizlik noktaları, doldurma makineleri ve doldurma hattından topladıkları örneklerden sırasıyla %28, %5,3 ve %8 oranında *Cronobacter* spp. tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Schmid ve ark., (2009), iki *C. sakazakii* suşunu bitki köklerinden izole etmişlerdir. İnsan dışkı (1/98) ve derisinde (1/116) *Cronobacter* spp. tespit edilmesine karşın (Kandhai ve ark., 2010) sığır dışkısında, çiftlik topraklarında ve sularında bu bakteri izole edilememiştir (Molloy ve ark., 2009).

Gıda Kaynakları

Hayvansal ve bitkisel kökenli birçok gıdada tespit edilen *C. sakazakii*'nin çok değişik gıda üretim çevresinde bulunması, gıdaların üretimi sırasında risk teşkil eden konuların başında gelmektedir (Beuchat ve ark., 2009; Kandhai ve ark., 2010).

C. sakazakii'nin bakterileri inaktive edecek herhangi bir işlem veya uygulamaya maruz bırakılmayan çeşitli gıda ve içeceklerde bulunması, tahıl kökenli bebek mamalarının yanısıra bazı taze meyve ve sebzelerin *C. sakazakii*'nin üremesini desteklemesi, güvenlik riski hakkındaki endişeyi yalnızca bebeklerde değil aynı zamanda bağışıklık sistemi zayıflamış yaşlı tüketicilerde de arttırmaktadır (Beuchat ve ark., 2009).

C. sakazakii; et, sebze, peynir, tohum, kuru ot, baharat olmak üzere birçok gıdada tespit edilmiştir (Iversen ve Forsythe, 2004). Kandhai ve ark., (2010) real-time PCR yöntemiyle süt tozları, 1 yaş altı bebek mamaları, bir yaş üstü bebek mamaları, diğer çabuk çözünen toz gıdalar, kurutulmuş hububat, kıyma ve sebzelerde varlığını saptamışlardır. Iversen ve Forsythe (2004), toz bebek mamasında, kurutulmuş bebek gıdasında, süt tozunda, peynirlerde, baharat ve kuru otta bakterinin varlığını tespit etmişlerdir. Molloy ve ark., (2009), sığır dışkısında, çiftlik topraklarında ve sularında bu bakteriyi izole edememelerine karşın, sığır besinleri, domuz eti, sığır eti ve kıymaları, sığır eti burgerleri ve organik buğdaydan üretilmiş kahvaltılıklarda varlığını saptamışlardır.

Bulaşma yolu tam olarak bilinmemekle birlikte, kontamine toz bebek mamaları ve onun hazırlanmasında kullanılan ekipmanlar *C. sakazakii*'nin başlıca kaynağı olarak bilinir (Bowen ve Braden, 2008; Fanning ve Forsythe, 2008). Dolayısıyla sulandırılmış toz bebek mamalarındaki *C. sakazakii*'nin kontaminasyonu, iç faktörler (örn., kontamine ingrediyenlerin pastörizasyon sonrası kullanımı, paketlenme öncesi üretim ortamları) ve mamanın sulandırılması ve hazırlama işlemlerinin diğer aşamaları sırasında oluşan harici kontaminasyonlardan (örn., hijyenik olmayan alet ve edevat kullanılması) kaynaklanır (Fanning ve Forsythe, 2008). Muyltjens ve ark., (1988), 35 ülkeden elde ettikleri 141 bebek mamasının %52,5'inde *Enterobacteriaceae* üyelerinin izole edildiğini, en sık rastladıkları türlerden *E. agglomerans*, *E. cloacae*, *C. sakazakii* ve *Klebsiella pneumoniae*'yi sırasıyla; 35, 30, 20 ve 17 örnekte tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar hiçbir üründe *Enterobacteriaceae* üyesi bakterilerin sayısının 1 kob/g'ın üzerinde olmadığını ve *Enterobacteriaceae* sayısı bakımından FAO tarafından istenilen mikrobiyolojik kritere (< 3 kob/g toz mama) uygun olduğunu bildirmişlerdir. Nazarowec-White ve Farber (1997b), Kanada'da marketlerden elde edilen 120 bebek mamasının

8'inde *C. sakazakii*, (Hoque ve ark., 2010), Bangladeş'te marketlerden topladığı 32 toz bebek mamasının yalnızca bir tanesinde *Cronobacter* spp., (Terragno ve ark., 2009), Arjantin'de üç farklı marka ithal toz bebek mamalarında *C. sakazakii*'nin varlığını belirlemişlerdir. Block ve ark., (2002) *C. sakazakii*'nin toz bebek mamalarında tespit edilemediğini, buna karşın hazırlanmış bebek mamalarında ve mamaların hazırlanmasında kullanılan parçalayıcılarda saptandığını bildirmişlerdir. Clark ve ark., (1990) menenjit ve bakteriyemi semptomları gösteren her iki hastadan ve tükettikleri toz bebek mamalarından yapılan kültürlerden *C. sakazakii*'nin izole edildiğini, Simmons ve ark., (1989) hasta bebeklerden ve bebek mamalarından izole edilen *C. sakazakii*'nin benzer plazmid ve enzim profillerine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

ENFEKSİYONDA RİSK FAKTÖRLERİ

Isıl İşlemlere Karşı Dayanıklılık

Yüksek sıcaklık derecelerine direnci *Enterobacteriaceae*'nin birçok üyesinden yüksek bulunmuştur. Ancak yüksek sıcaklığa dirençli birçok *C. sakazakii* suşu, standart bir pastörizasyon işlemiyle 8 log düzeyinde bir azalma göstermektedir (Dauga ve Breeuwer, 2008). Sulandırılmış toz bebek mamalarında 52, 54, 56, 58 ve 60 °C'de D değerleri sırasıyla 54,8, 23,7, 10,3, 4,2 ve 2,5 dakika olarak tespit edilmiştir (Nazarowec-White ve Farber, 1997c).

Wan-Ling ve ark., (2010), 47 °C'de 15 dakika ısı şokuna maruz kalmış *C. sakazakii*'yi yağsız süte 8 log kob/ml düzeyinde inoküle ettikten sonra laktik asit bakterilerince gerçekleştirilen 24 saatlik fermentasyon sonrası, canlı kalan bakteri sayısını 5,93-6,01 log kob/ml, ısı şoku uygulanmamış hücrelerde ise 4,96-4,99 log kob/ml olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar letal sıcaklık derecesinin altında veya maksimum üreme sıcaklık derecesinin birkaç derece üzerinde uygulanacak ısıl işlemlerin, bakterinin maruz kalacağı letal stres faktörlerine karşı direnç geliştirmesine sebep olduğunu bildirmiş-

lerdir. Bununla birlikte sprey kurutma, dondurarak kurutma ve yağsız sütteki laktik fermentasyona karşı ısı şoku uygulanmamış hücelere göre daha fazla dayanıklılık gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Arroyo ve ark., (2009), pH 7,0'deki ısı direncinin pH 4,0'dekine göre 10 kat fazla olduğunu, ancak pH 4,0'te su aktivitesinin 0,96'ya düşmesiyle ortaya çıkan direncin pH 7,0'deki yüksek su aktivitesi değerlerine (>0.96) sahip olanlara göre 32 kat arttığını bildirmişlerdir.

Osmotik Basınca ve Kurutmaya Direnç

Cronobacter spp. osmotik basınç ve kuru ortamlarda meydana gelen strese karşı direnci bilinen ve kuru ortamlarda 2 yıldan fazla yaşayabilen bir bakteridir (Osaili ve Forsythe, 2009). Durağan fazdaki *Cronobacter* hücrelerinin kuruma ve osmotik strese karşı direnci *E. coli*, *Salmonella* ve *Enterobacteriaceae*'nin diğer üyelerinden daha yüksek bulunmuştur (Dauga ve Breeuwer, 2008; Osaili ve Forsythe, 2009). *C. sakazakii* mezofil sıcaklık derecelerinde 1M NaCl konsantrasyonlarına kadar gelişme gösterebilir (Dauga ve Breeuwer, 2008). Al-Nabulsi ve ark., (2009) 2.5 mg/ml lactoferinin (LF) içeren %0.2'lik peptonlu suda, 37 °C'de 4 saat muamele sonunda kurutulma işlemine maruz kalmamış *Cronobacter* spp.'de 4log kob/ml'lik bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın kurutulmaya maruz kalmış *Cronobacter* spp.'de 21 ve 37 °C'de 1 saat, 10 °C'de 8 saat yapılan uygulamanın 4log kob/ml'lik bir azalmaya sebep olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte kurutulmaya maruz bırakılmış *Cronobacter* spp.'nin nisine karşı dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir (Al-Nabulsi ve ark., 2009).

Biofilm Oluşturma Özellikleri

Bazı bakteri ve mantarlar yüzeylere tutunduktan sonra ekzopolisakkaritler üreterek biofilm oluşturabilirler. *C. sakazakii*'nin abiyotik materyallere (örn., silikon, lateks, polikarbonat, paslanmaz çelik, cam ve polivinil klorid) tutunup biofilm oluşturduğu bildirilmiştir (Beuchat ve ark., 2009; Iversen ve ark.,

2004b). *Enterobacteriaceae* üyelerinin bakteriyel biofilm oluşturması 24 saat sonrasında yaklaşık 10^5 - 10^6 kob/cm²'dir. Buna karşın, *Acinetobacter* gensp. 13 kayda değer olmayan yoğunlukta bir biofilm oluştururken, *C. sakazakii* ATCC 12868 suşu 10^7 kob/cm² ile en yoğun biofilm tabakası oluşturmuştur (Hurrel ve ark., 2009). *C. sakazakii*'nin bebek biberonlarının iç yüzeyinde sekiz saat içerisinde 10^7 kob/ml, 24 saat içerisinde 10^9 kob/ml hücre yoğunluğuna eriştiği bildirmiştir (Hurrel ve ark., 2009).

Asit Ortamlara ve Dezenfektanlara Direnci

C. sakazakii'nin asit ortamlara direnci konusunda fazla çalışma bulunmamaktadır. pH'sı HCl ile ayarlanmış tryptone soy broth'da minimum gelişme pH'sı 3.9 olarak bildirilmiştir (Dauga ve Breeuwer, 2008).

Sanitasyon maddeleri ve dezenfektanlara karşı direnci; dezenfektanın tipi, miktarı, bakteriyi çevreleyen organik maddenin çeşidi, maruz kalma zamanına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Beuchat ve ark., 2009).

İZOLASYONUNDA KULLANILAN METOTLAR

C. sakazakii'nin varlığını belirlemede kullanılan hızlı ve uygun yeterli sayıda metot olmaması ve bakterinin rutin olarak araştırılmamasından dolayı, çevrede *C. sakazakii*'nin varlığı ve sebep olduğu vaka sayısı tam olarak tahmin edilememektedir (Al-Holy ve ark., 2008).

Klasik Mikrobiyolojik Metotlar

Gıdaların hijyenik kalitesini belirlemede kullanılan klasik kültürel yöntemler, indikatör mikroorganizmaların belirlenmesinin yanı sıra patojenlerin belirlenmesinde de temel teşkil etmektedir (Leclercq ve ark., 2002). *C. sakazakii* enterik bakterilerin izolasyonunda kullanılan MacConkey, eosin methylene blue ve deoxycholate agar vb besiyerlerinde üreyebilir (Iversen ve Forsythe, 2003). Günümüze kadar, *C. sakazakii*'nin gıda ve çevresel

kaynaklardan izolasyonunda; klasik kültürel yöntemler kullanılarak yapılan mikrobiyolojik çalışmalarda birçok diferensiyel ve selektif besiyerleri (Beuchat ve ark., 2009) ve farklı metotlar (Fanning ve Forsythe, 2008) geliştirilmiştir (Tablo 1).

FDA'nın, toz bebek mamalarında *C. sakazakii*'nin aranmasında önerdiği metot oldukça zaman alıcı bir yöntemdir (Tablo 2). *C. sakazakii*'nin izolasyon ve identifikasyonu için FDA'nın önermiş olduğu metot, Muyltjens ve ark (1998)'nin önermiş olduğu metoda, tamponlanmış peptonlu su yerine steril distile suda yapılan ön zenginleştirme işlemi dışında benzerlik göstermektedir (FDA, 2002b; Al-Holy ve ark., 2008; Fanning ve Forsythe, 2008; Druggan ve Iversen, 2009). ISO'nun çıkarmış olduğu Süt ve Süt Ürünlerinde Enterobacter sakazakii'nin

belirlenmesi konulu standartta (ISO, 2006) bildirilen ISO yöntemi ön zenginleştirme ve zenginleştirme işlemleri ile izolasyonda kullanılan kromojenik boya içeren selektif katı besiyeri ve inkübasyon sıcaklık dereceleri bakımından FDA'nın yönteminden oldukça farklıdır (Tablo 3).

Son yıllarda geliştirilen besiyerleri, *C. sakazakii*'nin α glucosidase üretimini ve aktivitesini ortaya koyan elektif florojenik boyaların kullanılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Konu üzerinde ilk çalışmayı (Oh ve Kang, 2004), α glucosidase'in reaksiyona girdiği 4-methylumbelliferyl- α -D-glucopyronidase (MU α Glc) içeren ve floresans veren *C. sakazakii* kolonilerinin olduğu OK besiyerini kullanarak gerçekleştirmişlerdir.

Tablo 1. Toz Bebek Mamalarında *Cronobacter sakazakii*'nin Tespitinde Başvurulan Başlıca Kültürel Metotlar

Table 1. Main cultural methods applied for determining *Cronobacter sakazakii* in infant cereals

Metot	Ön zenginleştirme	Selektif zenginleştirme	İlk izolasyon	Tahmini identifikasyon
FDA	DW (37 °C)	EE broth (37 °C)	VRBGA	TSA'da 25 °C'de 48-72 saat sonra sarı pigment
DFI	BPW (37 °C)	EE broth (37 °C)	DFI agar (37 °C)	Mavi-yeşil koloniler
NES	BPW (37 °C)	mLST+vancomycin (45 °C)	TSA (37 °C)	Sarı, α -glucosidase pozitif koloniler
AES	ESSB (37 °C)	ESSB (37 °C)	ESIA (44 °C)	Mavi-yeşil koloniler
R&F	DW	EE broth (37 °C)	ESPM	Mavi-mavi-gri koloniler

FDA: Food Drug Administration; DFI: Druggan Forsythe Iversen; NES: Nestle; AES: AES Laboratoire; R&F: R&F Laboratories; DW: Distilled water; BPW:Buffered peptone water; ESSB: Enterobacter sakazakii selective broth; EE: Enterobacteriaceae enrichment; mLST: Modified lauryl sulfate tryptose; VRBGA: violet red bile glucose agar; TSA: Tryptone soy agar; ESIA: Enterobacter sakazaki isolation agar; ESPM: Enterobacter sakazakii plating medium.

MU α Glc'in, *Cronobacter* spp için kromojenik bir boya olan 5-bromo-4-chloro-indolyl- α -D-glucopyronidase (X α Glc)'dan daha az spesifik olması üzerine *Cronobacter* spp izolasyonunda kromojenik boya içeren besiyerleri geliştirilmiştir (Druggan ve Iversen, 2009). Iversen ve ark.,'nin (2004a) geliştirdiği Druggan-Forsythe-Iversen agarda, α glucosidase'in substratı olarak 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- α -D-glucopyranoside bulunmaktadır. Bakterinin salgıladığı enzim ve besiyerine katılan bu substrat arasında meydana gelen reaksiyon sonucunda mavi-yeşil koloniler oluşmaktadır.

Popülasyonun heterojenliği ve yeterli biyokimyasal verilerin olmayışının yanı sıra, biyokimyasal identifikasyon striplerinin zayıflığı da *Cronobacter* spp.'lerin izolasyon ve identifikasyonlarında kullanılan besiyerlerinde yeni arayışlar getirmiştir. Bunlardan birisi, iki kromojenik boya içeren besiyerlerinin kullanılmasındadır. Bu amaçla geliştirilen Enterobacter Sakazakii Plating Medium (ESPM), diğer kromojenik besiyerlerinde olduğu gibi X α Glc'un yanı sıra bir trisakkarit analogu olan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucopyronaso- β -D-glucopyronoside (X-cellobiose) içerir. ESPM bir pH

indikatörü'nün yanı sıra adonitol, sorbitol, D-arabitol gibi fermente edilebilir karbonhidratları içerir (Druggan ve Iversen, 2009).

C. sakazakii'nin izolasyonunda kullanılan besiyerleri içerisindeki selektif bileşenlerin, stres altında kalmış ve zarar görmüş *C. sakazakii* hücrelerinin kurtarılmasında, olumsuz etkide bulunduğu bildirilmiştir. Joosten ve ark., (2008), *Enterobacteriaceae* üyesi 95 türden dokuz türün (yedi *C. sakazakii*, bir *C. malonaticus*, bir *Enterobacter amnigenus*) Enterobacteriaceae Enrichment Broth (EE)'da gelişiminin inhibe olduğunu, hücre ölümüne sebep olan faktörlerin, besiyerinin bileşiminde bulunan safra tuzları ve boyalar olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca yüksek sıcaklık ve kurutma şartlarında yaşaması dolayısıyla toz bebek mamalarının mikrobiyasında bulunabilecek *Bacillus* türleri Gram negatif bakterilere karşı etkili olan polimiksin ve kolitsin gibi antimikrobiyel metabolitler üretirler. Bu olumsuz faktörleri ortadan kaldırmak için *Enterobacteriaceae* aranmasında ön zenginleştirmede kullanılan tamponlanmış peptonlu suya 40 µM 8-

hydroxyquinoline, 0.5 gL⁻¹ ammonium iron (III) citrate, 0.1 gL⁻¹ sodium deoxycholate ve 0.1 gL⁻¹ sodium pyruvate ilavesinin, deneysel ve doğal kontamine olmuş örneklerden *Enterobacteriaceae* üyelerinin geri alınmasını geliştirdiği bildirilmiştir (Weber ve ark., 2009). Al-Holy ve ark., (2008), toz bebek mamalarında stres faktörlerine maruz bırakılmış *C. sakazakii* hücrelerini geri almada OK besiyeri, Violet Red Bile Agar (VRBA), Druggan-Forsythe-Iversen (DFI), *Enterobacteriaceae* enrichment agar (EEA) ve fecal coliform agar (FCA) olmak üzere beş farklı selektif besiyeri kullanmışlardır. Araştırmacılar yanı sıra %0.1 sodyum piruvat içeren TSA üzerine ince bir tabaka oluşturacak şekilde bu beş besiyerinin her birinden ayrı ayrı 8 ml katarak overlay metotunu da denemişler ve bu metodun stres altındaki *C. sakazakii* hücrelerini belirlemede daha etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Lampel ve Chen (2009), aynı toz bebek mamalarından *C. sakazakii* izolasyonunun, bazen DFI agarda bazende R&F agarda gerçekleştirilemediğini dolayısıyla her iki agarın *C. sakazakii* izolasyonunda birlikte kullanılması gerektiğini önermişlerdir.

Tablo 2. *Cronobacter sakazakii* İzolasyon ve İdentifikasyonunda FDA Yöntemi

Table 2. FDA Technique for Isolation and Identification of *Cronobacter sakazakii*

Gün	Safhalar
0	Üç ayrı tüpe 1 g toz maması konularak 9 ml 45 °C steril distile suyla çözündürülür. 36 °C'de 18 saat inkübe edilir.
1	Üç ayrı erlene 10 g toz maması konulara 90 ml 45 °C steril distile suyla çözündürülür. 36 °C'de 18 saat inkübe edilir.
1	Üç ayrı erlene 100 g toz maması konulara 900 ml 45 °C steril distile suyla çözündürülür. 36 °C'de 18 saat inkübe edilir.
1	Ön zenginleştirme yapılan her bir örnekten 10 ml alınarak 90 ml EE broth bulunan pyrex şişelere alınır. 36 °C'de 24 saat inkübe edilir
2	Her bir örnekten 0.1ml VRBGA üzerine yayılarak ekilir. 36 °C'de 24 saat inkübe edilir.
2	Her bir örnekten 0.1 µl VRBGA üzerine özeyle çizilerek ekilir. 36 °C'de 24 saat inkübe edilir
3	Beş <i>Cronobacter sakazakii</i> şüpheli koloni TSA'ya geçilir ve 25 °C'de 48-72 saat inkübe edilir
5/6	Oksidaz negatif sarı renkli koloniler biyokimyasal testlere tabi tutulur veya API 20E uygulamak için oksidaz negatif koloniler biyokimyasal test striplerine aktarılır. Stripler 36 °C'de 24 saat inkübe edilir
6/7	Biyokimyasal sonuçlar yorumlanır.

FDA: Food Drug Administration; EE: Enterobacteriaceae enrichment; VRBGA: Violet red bile glucose agar; TSA: Tryptone soy agar

Tablo 3. *Cronobacter sakazakii* İzolasyon ve İdentifikasyonunda ISO Yöntemi**Table 3.** ISO Technique for Isolation and Identification of *Cronobacter sakazakii*

Gün	Safhalar
0	50 g toz bebek maması 450 ml steril TPS içerisinde çözündürülür ve 37 °C'de 18 saat ön zenginleştirme için inkübe edilir.
1	Ön zenginleştirme yapılan örnekten 0.1 ml 10 ml modifiye LST (01ml vancomycin içerir) bulunan tüplere alınır ve 44 °C'de 24 saat inkübe edilir
2	Zenginleştirme örneklerinden bir öze dolusu (0.1 µl) ESIA üzerine özeyle ekilir ve 44 °C'de 24 saat inkübe edilir
3	Beş <i>Cronobacter sakazakii</i> şüpheli koloni TSA'ya geçilir ve 25 °C'de 48 saat inkübe edilir
5/6	Sarı renkli koloniler biyokimyasal testlere tabi tutulur ve biyokimyasal sonuçlar yorumlanır

TPS:Tamponlanmış peptonlu su; LST: Lauryl sulfat tryptose; ESIA:Enterobacter sakazakii izolaiton agar; TSA:Tryptone soy agar

Polymerase Chain Reaction (PCR)

İzolasyon besiyerlerinde tipik koloni morfolojisinin varlığı yalnızca tahmini bir identifikasyondur ve gerçekte bu kolonilerin aranan mikroorganizma olup olmadığının doğrulanması oldukça önemlidir. İdentifikasyon işlemleri genellikle biyokimyasal testlerle gerçekleştirilirse de moleküler identifikasyon yöntemleri son yıllarda artarak kullanılmaktadır (Druggan ve Iversen, 2009). Birçok PCR denemesi *C. sakazakii*'yi tespit etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir (Fanning ve Forsythe, 2008).

Kandhai ve ark., (2010), real-time PCR yöntemiyle süt tozları, bebek mamaları, diğer çabuk çözünen toz gıdalar, kurutulmuş hububat, kıyma ve sebzelerde *C. sakazakii* varlığını tespit etmişlerdir. Hoque ve ark., (2010), 32 toz bebek mamasının yalnızca bir tanesinde, DFI agarda mavi-yeşil koloni oluşumu ile karakterize olan *Cronobacter spp.*' nin kültürel olarak tanımlanmasını takiben, α glucosidase enzimini hedef alan gen sırası dizilimini PCR ile belirleyerek etkeni identifiye etmiştir.

Liu ve ark., (2007), PCR ve real time PCR'ın doğru ve duyarlı sonuçlar verdiğini ancak gelişmekte olan ülkelerde PCR ekipmanlarının temini ve yetişmiş personelin azlığından dolayı uygulanmasında sıkıntılar olduğundan, hedef bölgenin hızlı ve etkin olarak çoğaltılmasına dayanan Loop-Mediated Isothermal Amplification olarak bilinen tek tüpte mikrobiyolojik tanıyı *C. sakazakii*'nin tespitinde

kullanmışlar ve metodun duyarlılığını 1.2 kob/100g olarak bildirmişlerdir.

Fanning ve Forsythe (2008), bakterilerin proteini veya nükleik asit profillerinin çıkarılmasıyla gerçekleştirilen moleküler tiplendirmelerin; gıda kaynaklı hastalıklarda yer alan izolatların epidemiyolojik bilgilerini elde etmede kullanılan bir yaklaşım olduğunu ifade etmişlerdir. Bu amaçla *C. sakazakii*'nin moleküler olarak tiplendirilmesinde PFGE, RAPD ve ribotiplendirme yöntemleri kullanılmıştır (Fanning ve Forsythe, 2008).

SONUÇ

Birçok yaş grubunda, özellikle vücut direnci düşük veya bağışıklık sistemi zayıflamış insanlarda, değişik enfeksiyonlarda (örn., pnömoni, konjunktivitis, apandisit), yeni doğan bebeklerde ve çocuklarda menenjit, beyin apseleri ve bakteriyemi vakalarında tespit edilen *C. sakazakii*'nin çeşitli gıda ve gıda üretim çevrelerinde bulunması, yüksek sıcaklığa direncinin Enterobacteriaceae'nın birçok üyesinden yüksek olması, osmotik basınç ve kuru ortamlarda meydana gelen strese karşı dirençli olması, kuru ortamlarda 2 yıldan fazla yaşayabilmesi ve abiyotik materyallere tutunup biofilm oluşturabilmesi dolayısıyla risk düzeyi yüksek ürünlerin üretiminde bazı tedbirlerin alınması gerekmektedir. Gıda kaynaklı *C. sakazakii* enfeksiyonlarını önlemede önem arz eden tedbirler, hammaddede olası kontaminasyon seviyesinin kontrol altına alınmasına

yönelik tedbirler; çiğ süt, diğer hammadde ve ingrediyenlerin ısıtılması sırasında sayının azaltılmasının kontrol altına alınması; ısıtım sonrası kontaminasyonlardan kaçınmak; mikrobiyolojik kriterlere uymak; *C. sakazakii* enfeksiyonu ile ilişkili olan toz bebek mamaları ile ilgili limitler koymak; riskli gıdaların etiket bilgilerinde depolama, tüketime hazırlama ve sonrasında uyulması gereken kuralların açıklanması şeklindedir.

KAYNAKLAR

- Al-Holy MA., Lin M., Al-Qadiri HM., Rasco, BA., 2008. A comparative study between overlay method and selective-differential media for recovery of stressed *Enterobacter sakazakii* cells from infant formula. *Food Microbiol.*, 25, 22-28.
- Al-Nabulsi A., Osaili TM., Al-Holy MA., Shaker RR., Ayyash MM., Olaimat AN., Holley, RA., 2009. Influence of desiccation on the sensitivity of *Cronobacter* spp. to lactoferrin or nisin in broth and powdered infant formula. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 221-226.
- Arroyo C., Condon S., Pagan R., 2009. Thermobacteriological characterization of *Enterobacter sakazakii*. *Int J Food Microbiol.*, 136, 110-118.
- Beuchat LR., Kim H., Gurtler JB., Lin LC., Ryu JH., and Richards GM., 2009. *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth and inactivation. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 204-213.
- Biering G., Karlsson S, Clark NC., Jonsdottir KE., Ludvigsson P., Steingrimsson O., 1989. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 9, 2054-2056.
- Block C., Peleg O., Minster N., Bar-Oz B., Simhon A., Arad I., Shapiro M., 2002. Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to unusual biochemical variant of *Enterobacter sakazakii*. *Europ. J. Clin Microbiol. & Dis.*, 21, 8, 613-616.
- Bowen AB., Braden, CR., 2008. *Enterobacter sakazakii* disease and epidemiology. In: *Enterobacter sakazakii*, Ed. By: Jeffrey M. Farber, and Stephen J. Forsythe. Page 101-125, ASM Press, Washington.
- Burdette JH., Santos C., 2000. *Enterobacter sakazakii* brain abscess in the neonate: the importance of neuroradiologic imaging. *Pediatr. Radiol.*, 30, 33-34.
- Clark NC., Hill BC., O'Hara CM., Steingrimsson O., Cooksey RC., 1990. Epidemiological typing of *Enterobacter sakazakii* in two neonatal nosocomial outbreaks. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 13, 467-472.
- Dauga C., Breeuwer P., 2008. Taxonomy and physiology of *Enterobacter sakazakii*. In: *Enterobacter sakazakii*, Ed By: Jeffrey M. Farber and Stephen J. Forsythe. Page 1-26, ASM Press, Washington.
- Druggan P., Iversen C., 2009. Culture media for the isolation of *Cronobacter* spp. *Int J. Food Microbiol.*, 136, 169-178.
- Fanning S., Forsythe, S., 2008. Isolation and identification of *Enterobacter sakazakii*. In: *Enterobacter sakazakii*, Ed By: Jeffrey M. Farber and Stephen J. Forsythe. page 27-59, ASM Press, Washington.
- Farber JM., Pagotto F., Cordier JL., 2008. Regulatory aspects. In: *Enterobacter sakazakii*, Ed By: Jeffrey M. Farber and Stephen J. Forsythe. Page 235-253, ASM Press, Washington.
- Farmer JJ., Asbury MA., Hickman FW., Brenner DJ., 1980. The *Enterobacteriaceae* study group, *Enterobacter sakazakii*: A new species of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 30, 3, 569-584.
- Farmer JJ., Davis BR., Hickman-Brenner FW., McWhorter A., Huntley-Carter JP., Asbury MA., Riddle C., Wathen-Grady HG., Elias C., Fanning JR., Steigerwalt AG., O'Hara CM., Morris GK., Smith PB., Brenner DJ., 1985. Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 21, 1, 46-76.
- FDA., 2002a. FDA warns about possible *Enterobacter sakazakii* infections in hospitalized newborns fed powdered infant formulas [http:// www. cfsan. fda. gov/~lrd/ tpinf. html](http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/tpinf.html). April 12.
- FDA., 2002b. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant Formula. [http:// www.cfsan.fda.gov/~com/ mmesakaz-. html](http://www.cfsan.fda.gov/~com/mmesakaz-.html). July 2002, Revised August 2002;
- Forsythe SJ., 2005. *Enterobacter sakazakii* and other

- bacteria in powdered infant milk formula. *Matern. Child. Nutr.*, 1, 44-50.
- Gurtler JB., Kornacki JL., Beuchat LR., 2005. *Enterobacter sakazakii*: A coliform of increased concern to infant health. *Int. J. Food. Microbiol.*, 104, 1-34.
- Hawkins RE., Lissner CR., Sanford JP., 1991. *Enterobacter sakazakii* bacteremia in adult. *South. Med. J.*, 84, 6, 793-795.
- Hoque A., Ahmed T., Shahidullah M., Hossain A., Mannan A., Noor K., Nahar K., Ilias M., Ahmed D., 2010. Isolation and molecular identification of *Cronobacter* spp. from powdered infant Formula (PIF) in Bangladesh. *Int. J. Food. Microbiol.*, 142, 375-378.
- Hurrel E., Kucerova E., Loughlin M., Caubilla-Barron J., Forsythe SJ., 2009. Biofilm formation on enteral feeding tubes by *Cronobacter sakazakii*, *Salmonella* serovars and other *Enterobacteriaceae*. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 136, 227-231.
- ISO., 2006. Milk and Milk Products-Detection of *Enterobacter sakazakii*. Technical Specification, ISO/TS 22964.
- Iversen C., Forsythe SJ., 2003. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends Food Sci. Technol.*, 14, 443-454.
- Iversen C., Forsythe S., 2004. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacteriaceae* from powdered infant formula milk and related products. *Food Microbiol.*, 21, 771-777.
- Iversen C., Druggan P., Forsythe SJ., 2004a. A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*. *Int. J. Food Microbiol.*, 96, 133-139.
- Iversen C., Lane M., Forsythe SJ., 2004b. The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.*, 38, 378-382.
- Iversen C., Lehner A., Mullane N., Bidlas E., Cleenwerck I., Marugg J., Fanning S., Stephan R., Joosten H., 2007. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii*, comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus*, subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter* genomospecies I. *BMC Evol. Biol.*, 7, 64.
- Iversen C., Mullane N., Mccardel B., Tall BD., Lehner A., Fanning S., Stephan R., Joosten H., 2008. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter* genomospecies 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, 58, 1442-1447.
- Joosten H., Marugg J., Stephan R., Klijn A., Jackson T., Iversen C., 2008. A rapid and reliable alternative to ISO 21528-1:2004 for detection of *Enterobacteriaceae*. *Int. J. Food Microbiol.*, 125, 344-346.
- Kandhai MC., Reij MW., Gorris LGM., Guillaume-Gentil O., Van Schothorst M., 2004a. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *The Lancet*, 363 (9402), 39-40.
- Kandhai MC., Reij MW., van Puyvelde K., Guillaume-Gentil O., Beumer RR., van Schothorst M., 2004b. A new protocol for the detection of *Enterobacter sakazakii* applied to environmental samples. *J. Food Protect.*, 67, 1267-1270.
- Kandhai MC., Heuvelink AE., Reij MW., Beumer RR., Dijk R., van Tilburg JJHC., van Schothorst M., Gorris LGM., 2010. A study into occurrence of *Cronobacter* spp. in the Netherlands between 2001 and 2005. *Food Cont.*, 21, 1127-1136.
- Lai KK., 2001. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children and adults. *Medicine*, 80, 2, 113-122.
- Lampel KA., Chen Y., 2009. Method for the isolation and detection of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter*) from powdered infant formula. *Int. J. Food. Microbiol.*, 136, 179-184.

- Leclercq A., Wanegue C., Baylac P., 2002. Comparison of fecal coliform agar and violet red bile lactose agar for fecal coliform enumeration in foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 4, 1631-1638.
- Liu C., Zheng W., Zhang H., Hou Y., Liu Y., 2007. Sensitive and rapid detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula by loop-mediated isothermal amplification method. *J. Food Safety*, 29, 83-94.
- Molloy C., Cagney C., O'Brien S., Iversen C., Fanning S., Duffy G., 2009. Surveillance and characterisation by pulsed-field gel electrophoresis of *Cronobacter* spp. in farming and domestic environments, food production animals and retail foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 198-203.
- Muytjens HL., Roelofs-Willems H., Jaspars GHJ., 1988. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.*, 26, 4, 743-746.
- Nazarowec-White M., Farber JM., 1997a. *Enterobacter sakazakii*: A review. *Int. J. Food Microbiol.*, 34, 103-113.
- Nazarowec-White M., Farber JM., 1997b. Incidence, survival, and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *J. Food Protect.*, 60, 3, 226-230.
- Nazarowec-White M., Farber JM., 1997c. Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. *Lett. Appl. Microbiol.*, 24, 9-13.
- Nazarowec-White M., Farber JM., 1999. Phenotypic and genotypic typing of food and clinical isolates of *Enterobacter sakazakii*. *J. Med. Microbiol.*, 48, 559-567.
- Oh SW., Kang DH., 2004. Fluorogenic selective and differential medium for isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 5692-5694.
- Osaili T., Forsythe S., 2009. Desiccation resistance and persistence of *Cronobacter* species in infant formula. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 214-220.
- Pagotto F., Farber JM., Lenati R., 2008. Pathogenicity of *Enterobacter sakazakii*. In: *Enterobacter sakazakii*, Ed By: Jeffrey M. Farber, Stephen J. Forsythe. Page. 127-144, ASM Press, Washington.
- Reich F., König R., von Wiese W., Klein G., 2010. Prevalence of *Cronobacter* spp. in powdered infant formula processing environment. *Int. J. Food Microbiol.*, 140, 214-217.
- Schmid M., Iversen C., Gontia I., Stephan R., Hofmann A., Hartmann A., Jha B., Eberl L., Riedel K., Lehner A., 2009. Evidence for a plant-associated natural habitat for *Cronobacter* spp. *Res. Microbiol.*, 160, 608-614.
- Skovgaard N., 2005. Current topics in food microbiology. *Int. J. Food Microbiol.*, 99, 107-111.
- Simmons BP., Gelfand MS., Hass M., Metts L., Ferguson J., 1989. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant Formula. *Infect. Cont. Hosp. Epidemiol.*, 10, 9, 398-401.
- Terragno R., Salve A., Pichel M., Epsztejn S., Brengi S., Binsztejn N., 2009. Characterization and subtyping of *Cronobacter* spp. from imported powdered infant formulae in Argentina. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 193-197.
- Townsend S., Forsythe SJ., 2008. The neonatal intestinal microbial flora, immunity, and infections. In: *Enterobacter sakazakii*, Ed By: Jeffrey M. Farber, Stephen J. Forsythe. Page 1-26, ASM Press, Washington.
- van Acker JV., Smet FD., Muyldermans G., Bougatef A., Naessens A., Lauwers S., 2001. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J. Clin. Microbiol.*, 39, 1, 293-297.
- Wan-Ling H., Chang CH., Chou CC., 2010. Heat shock effects on the viability of *Cronobacter sakazakii* during the dehydration, fermentation, and storage of lactic culture milk products. *Food Microbiol.*, 27, 280-285.
- Weber C., Stephan R., Druggan P., Joosten H., Iversen C., 2009. Improving the enrichment procedure for Enterobacteriaceae detection. *Food Microbiol.*, 26, 565-572.
- Willis J., Robinson JE., 1988. *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates. *Pediatr. Infect. Dis J.*, 7, 196-199.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ YAYIN ŞARTLARI

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.
2. Bu dergide, Veteriner Hekimlik ve ilgili Anabilim Dallarını alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, vaka takdimi ve derlemeler yayımlanır.
3. Makaleler Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmalıdır.
4. Makaleler daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış olmalıdır.
5. Yazarlar, başka kaynaklardan alınan ve kullanılan materyal ile ilgili telif hakkı şartlarına uymak ve telif hakkının dergiye devrini ifade eden sözleşmeyi imzalamakla yükümlüdürler. Dergide yer alan yazılardan doğacak her türlü sorumluluk yazar(lar)ına aittir.
6. Makaleler değerlendirme için en az iki danışmana gönderilir. Makalenin yayına kabulü, danışmanların ve yayın kurulunun kararına bağlıdır.
7. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nde yayımlanacak olan hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda "Etik Kurul Onayı Alınmıştır" ifadesi aranır. Tez çalışmalarından özetlenen makalelerde etik kurul kararı aranmaz.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. **Makaleler**, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, 16 sayfayı geçmemelidir. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, Times New Roman karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.
2. **Başlık**: Türkçe ve yabancı dilde yazılmalı, yalnız ilk harfleri büyük olmalıdır (**Sığırdaki Beta-endorfin Seviyesi**).
3. **Yazar(lar)ın isim ve Soyisimleri**: Yazarların adı ve soyadının (akademik unvanlı) sadece baş harfleri büyük ve başlığın altına ortala gelecek şekilde yazılması gerekir (**Yakup Kara**). Her bir yazarın adı, soyadı ve adresi açık bir şekilde yazılmalıdır.
4. **Sorumlu yazar ve adresler**: Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli, yazarların isminin sağ üst köşesine sayı eklenmeli ve bu sayılar adresler bölümünde kullanılmalıdır. Yazarların adresinde; adı, soyadı, bağlı olduğu kurum, birim, şehir ve e-mail adresi belirtilmelidir.
5. **Birinci sayfa**: Başlık, Kısa başlık, Yazarların isim ve adresleri, Araştırmayı destekleyen kuruluş, proje veya tez gibi bilgiler içermeli
6. **İkinci sayfa**: Türkçe ve İngilizce özet içermelidir.
- ❖ **Özet**: Kısaca amaç, materyal, metod, bulgular sonuçları içermeli ve 180-200 kelime arasında olmalıdır. Türkçe ve İngilizce başlıkları ile birlikte tek satır aralıklarla yazılmalıdır.
7. **Anahtar kelimeler**: En fazla 5 adet olmalı ve her özetin altında alfabetik sıraya göre ve sadece baş harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır.
8. Makale **üçüncü sayfadan** itibaren GİRİŞ, MATERYAL ve METOT, BULGULAR, TARTIŞMA ve KAYNAKLAR bölümleri halinde birbirini takip etmelidir. Bölüm başlıkları büyük harflerle yazılmalıdır.
- ❖ Bulgular ve tartışma birlikte verilebilir. Gerekli olduğu takdirde, Sonuç ve Öneriler ile Teşekkür bölümleri de eklenebilir.
- ❖ Bölümlere ait **1. alt başlıklar** yalnız ilk harfleri büyük olacak şekilde paragraf hizasında yazılmalıdır (**Kimyasal Analizler**).
- ❖ 2. ve devam eden alt başlıklarda ise **italik** ve yalnız ilk harfleri büyük harflerle yazılmalıdır (**Nitrik Oksit Tayini**)
- ❖ Tüm başlıklar **koyu** tonda ve 12 punto ile paragraf hizasında (1 cm) yazılmalıdır. Makaleye **satır (her sayfada yeniden)** olacak şekilde ve **sayfa numaraları** (sayfa altında ve ortala) eklenmelidir.

9. Tablo ve Şekiller:

- ❖ Şekil, grafik, fotoğraf ve resimler başlıklarda ve metin içerisinde **Şekil** olarak ifade edilmelidir. Şekil ve tablolar metin içerisindeki sırasına göre numaralandırılmalı ve paragraf içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Şekil 1, Tablo 1).
- ❖ Tablo ve şekiller makale içerisinde bulunması gereken bölümlere yerleştirilmeli, başlık ve açıklamaları da Türkçe ve İngilizce olarak eklenmelidir.
- ❖ Tablo ve şekillerde kullanılan her türlü **kısaltma** tablo ve şekil altında açıklanmalıdır

Birimler ve Kısaltmalar: Birimler ve ölçülerde Uluslararası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır. Cins ve tür isimleri **italik** olarak yazılmalıdır.

10. KAYNAKLAR- Metin içerisinde:

- ❖ Kaynak bildirimleri **tarih** sıralamasına göre yapılmalıdır. Örneğin; Tekinşen ve ark. (1990) olduğunu bildirmiştir veya sığırdaki glukoz seviyesiolarak belirlenmiştir (Warris, 1984; Tume ve Shaw, 1991; Tennessen ve ark., 1998; Kara ve ark., 2009). Parantez içerisinde kaynaklar yazılırken tarihi en eski olandan yeni olana doğru sıralama yapılmalıdır.
- ❖ İngilizce hazırlanan makalelerde çok yazarlı kaynaklar **et al**, iki yazarlı kaynaklar **and** ile bildirilmelidir. (Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al.,1998; Kara et al., 2009).
- ❖ Aynı yazar ve yıla sahip kaynaklarda ayırıcı harfler kullanılmalıdır (Akbulut, 1991a, 1991b).
- ❖ Kaynak internet ortamında ise: Anonim. 2009.
- ❖ **Kaynaklar Bölümünde**:
- ❖ Kaynaklar alfabetik ve kronolojik dize dikkate alınarak sıralanmalıdır.
- ❖ **Kaynak makale ise**: Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect. Immun.*, 69, 4657-4660.
- ❖ **Kaynak kitap ise**: Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th ed., Woodhead Publ., Cambridge.
- ❖ **Kaynak kitapta bir bölüm ise**: Mark E. 1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- ❖ **Kaynak bir kuruluşun yayını ise**: FAWC (1991). Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publ.
- ❖ Kaynak bir yazılım ise: SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th ed., Sas Institute, Cary.
- ❖ **Kaynak internet ortamında ise**: Anonim. 2009. Functional anatomy of the endocrine pancreas. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/pancreas/anatomy.html> [Erişim: 29.01.2009].
- ❖ Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin önerdiği uluslararası kısaltılmış şekli kullanılmalıdır.

MAKALENİN GÖNDERİLMESİ

- ❖ Makale sadece online sistem üzerinden gönderilecektir. <http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/index>
- ❖ Orijinal makale (*.doc uzantılı), Tablolar, (*.doc uzantılı)
- ❖ Şekiller (grafik, fotoğraf, şekiller) **JPEG** formatında **300 DPI** çözünürlükte ayrı dosya halinde gönderilmelidir.

DERGİ BASKISI

1. Makalenin yayına kabulü durumunda baskı ücreti olarak 1-10 sayfa arası 50 TL, 10 sayfayı geçen makalelerde ise sayfa başına ek olarak 5 TL alınacaktır. Ayrıca, **renkli baskısı** yapılacak olan **resim, şekil, grafik** ya da **tablo** başına ek ücret talep edilecektir.
2. Kabul edileceği bildirilen makalelerin baskı ücretleri **00158007296932174** nolu **Vakıfbank, Atatürk Üniversitesi Şubesi**, (Erzurum-Türkiye) şubesine yatırılmalı, ücretin yatırıldığını gösterir dekontun **e-posta** yoluyla gönderilmesi gerekir.
3. Ücreti yatırılan ve bütün işlemleri biten makalenin kabul mektubu en kısa sürede gönderilecektir.
4. Baskı aşamasındaki makaleler pdf formatında dergimize ait WEB alanına eklenecektir.
5. Basılan dergiden makaledeki yazar sayısı kadar sorumlu yazara dergi gönderilecektir.

DERGİ ADRESİ

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 25240 , Kampüs / Erzurum / TÜRKİYE
Telefon: 0442 236 08 80, Faks: 0442 236 08 81
E-posta: atavetderg@hotmail.com; vetdergisi@atauni.edu.tr

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS OF THE JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES OF ATATURK UNIVERSITY

1. The Journal of Veterinary Sciences of Ataturk University is a refereed scientific publication organ of Ataturk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. Abbreviation of the journal's title is "J. Vet. Sci. Ataturk University". 2. Original research papers, case reports and reviews prepared within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments are published in this journal. 3. Manuscripts to be submitted should be prepared either in Turkish or in English. 4. Manuscripts must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal. 5. Authors are responsible for complying with the copyright conditions related with the material cited (taken) from other resources or used and signing the agreement contract declaring transfer of the copyright to the journal. The full responsibility of the texts to be appeared within the journal belongs to the author(s). 6. Manuscripts to be considered are sent to the two referees at least. Acceptance of the manuscripts depends on both suggestion of the referees and final decision of the Editorial Board. 7. The statement of "Approved by the Board of Ethics" is warranted for scientific studies based on the animal experiments to be published within the Journal of Veterinary Sciences of Ataturk University. However, no such warranty is required for those manuscripts summarised from the studies of these.

MANUSCRIPT PREPARATION

1. **Manuscripts** should be written in A4-sized paper (one-sided), double-spaced, with 3 cm space from the margins of the paper and should not exceed 16 pages. They should be prepared by using Microsoft Word 6.0 or upper versions, Times New Roman characters with 12 point typing size. 2. **Title:** It should be written in Turkish or in foreign language along with the first letters to be in capital (β -endorphin Level in Cows) only. 3. **Name and Surname of Author(s):** Only the first letters of authors' names and surnames (without academic title) should be written in capital (Yakup KARA) and adjusted to the middle under the title. Name, surname and address of each author should be written clearly. 4. **Corresponding (responsible) author and addresses:** Corresponding author should be given along with (*) remark, a number should be added to the upper right-hand corner of the surname of authors and these numbers should be used accordingly in addresses section. For authors' addresses, name, surname, administrative body, work place, city and e-mail addresses should be given. 5. **First page:** It should contain title, authors' name-surname and addresses, funding body of the research, and details of project or thesis. 6. **Second page:** It should contain summary in Turkish and English. **Summary:** It should contain briefly the aim, material, method, results and conclusions. It should not exceed 200 words (180-200). Titles in Turkish and English should be written in single-spaced style.

7. **Key words:** They should be written 5 at maximum and alphabetic order along with the first letters to be in capital only under each abstract. 8. **Third page onwards,** the manuscript should continue with the sections of INTRODUCTION, MATERIALS and METHODS, RESULTS, DISCUSSION and REFERENCES in the following order. Section titles should be written in capital letters.

Results and Discussion may be compiled. The sections of Conclusions and Suggestions as well as Acknowledgement may also be included, as appropriate. The 1st sub-headings of the sections should be written with the first letters in capital only and aligned with the paragraph (Chemical Analyses). The 2nd and subsequent sub-headings should be written in *italic* style and their first letters should be in capital only (*Determination of Nitric Oxide*). All the headings should be written in black 12 point typing-size and aligned with the paragraph (1 cm).

9. Line (renewed on each page) and page numbers should be included within the manuscript. 10. **Tables and Figures:** Figures, graphics, photos and pictures within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations (legends) used within tables and figures should be explained right under them. 11. **Units and Abbreviations:** For units and measurements, International Standard units (SI-system) should be used. The names of sub-species (breed) and species should be written in *italic* style. 12. **REFERENCES** For the text section: Reports of references should be listed in chronological order. For example, Tekinsen et al. (1990) reported that... or the level of glucose was reported as ... (Warris, 1984; Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al., 1998; Kara et al., 2009). For manuscripts prepared in English, the references with numerous (more than two) authors should be given as et al., while those with two authors as and (Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al., 1998; Kara et al., 2009).

For references of the identical author and publication year, separate letters should be used (Akbulut, 1991a, 1991b).

For web-based references: Anonymous. 2009. For References section: References should be listed according to alphabetical and chronological order. For manuscripts: Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect. Immun.*, 69, 4657-4660. For books: Lawrie RA., 2002. *Lawrie, Meat Science*. 6th edn., Woodhead Publ., Cambridge. For chapters of a book: Mark E.1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, W.B. Saunders Company, Philadelphia. For publications of a Foundation: FAWC (1991). Report on the European Commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publ. For softwares: SAS 1990. *SAS User's Guide: Statistics*, 4th edn., SAS Institute, Cary. For web-based references: Anonymous. 2009. Functional anatomy of the endocrine pancreas. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/pancreas/anatomy> [Reached: 29.01.2009]. For writing the journal titles of the references cited, their short versions, as suggested by the journal concerned and recognized internationally, should be used.

SENDING MANUSCRIPTS

For sending the manuscripts by on line system <http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/index>

Original manuscript (*.doc extension), Tables (*.doc extension), Figures (graphs, photos, figures) should be sent in JPEG format with 300 DPI resolution, as a separate file.

JOURNAL PUBLICATION

1. Once the manuscript is accepted for publication, a publication fee of 50 Turkish Liras (TL) will be charged for up to 1-10 pages, as well as an additional 5 TL for each of exceeding (over 10) pages. Moreover, a further fee will be due for colourful pressing of each photo, figure, graph and table. 2. Publication fees of the manuscripts as confirmed to be accepted are payable into the account number of 00158007296932174 at the Vakifbank, Ataturk University Branch (Erzurum-TURKEY), and its receipt showing the fee due was paid should be sent by e-mail. 3. For those manuscripts of which the fees due was paid and all the requirements was fulfilled, an acceptance letter will be sent at the earliest time possible. 4. For those manuscripts presently in press, a pdf file will be added at the journal's address on the web. 5. For those manuscripts pressed already, separate copies will be sent to the corresponding author free of charge.

JOURNAL'S ADDRESS

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 25240, Yakutiye-ERZURUM (TR)
Phone: +90 (442) 2360880, Fax: +90 (442) 2360881
E-mail: atavetderg@hotmail.com; vetdergisi@atauni.edu.tr

TELİF HAKKI DEVİR FORMU

Aşağıda imzaları bulunan (Yazarların adı-soyadı)
..... tarafından
yazılmış (Makale adı)
..... adlı makalenin
orijinal olduğu, kısmen veya tamamen daha önceden yayınlanmadığı veya yayınlanmak üzere başka yayın
kuruluşuna gönderilmediği; danışman ve dergi editörü tarafından gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her
türlü yayın hakkını, yazının yayınlandığı tarihten itibaren Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne
devrettiğimizi taahhüt ederiz.

Bütün yazarlar tarafından imzalanmak üzere

<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>	<u>Tarih</u>
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Sorumlu Yazar:

Adı ve Soyadı:

Adres:.....

Telefon:.....

Fax:

E- mail:.....

Tarih:..... **İmza:**.....

Not: Lütfen formu doldurduktan sonra, e-mail adreslerimizden herhangi birine makaleyle birlikte gönderiniz.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
25240-Erzurum
Telefon: (0442) 236 08 80
Faks: (0442) 236 08 81
E-mail: vetdergisi@atauni.edu.tr
atavetderg@hotmail.com

COPYRIGHT RELEASE FORM

All authors (Name and surnames)
.....
.....of the manuscript titled
.....

.. is original\ has not been partially or totally published nor has it already been sent to any other journal.
After being revised by referees or editor and published, we agreed that all copyright is reserved by Ataturk
Universty journal of Vetarinary science.

Signatures

<u>Name and surname</u>	<u>Signature</u>	<u>Date</u>
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Correspondence Author:

Name and surname:

Address:.....

Phone:.....

Fax:

E- mail:.....

Date..... **Signature:**.....

Note: Send the e-mail and form after filled and signed to the address below.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
25240, Kampus-ERZURUM (TR)
Phone: +90 (442) 2360880
Fax: +90 (442) 2360881
E-mail: atavetderg@hotmail.com
vetdergisi@atauni.edu.tr

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Sayfa /
Page

Araştırma Makaleleri / Research Articles

- ▶ **Şükrü Hakan ATALGIN, İbrahim KÜRTÜL, Sevinç ATEŞ.** Morphological Observation of the Rostral Epidural Rete Mirabile (*Rete Mirabile Epidurale Rostrale*) in the Saanen Goat (*Saanen Tekesinde Rete Mirabile Epidurale Rostrale'nin Morfolojik Görünümü*). 177-181
- ▶ **Nejdet ŞİMŞEK, Ali KARADENİZ, Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Adem KARA, İsmail CAN.** Yetişkin Bildirincilerin Gastrointestinal Sisteminde Gastrin, Somatostatin ve Serotonin Salgılayan Hücreler Üzerine İmmunohistokimyasal Bir Araştırma (*An Immunohistochemical Study on the Gastrin-, Somatostatin- and Serotonin-Releasing Cells in the Gastrointestinal System of Adult Quails*). 183-193
- ▶ **Ebru ÇETİN, Nazmi ÇETİN.** Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Oksidatif Beyin ve Böbrek Hasarına Karşı Ghrelinin Koruyucu Etkisi (*Protective Effect of Ghrelin against the Oxidative Brain and Kidney Injuries Induced by Carbon Tetrachloride in Rats*). 195-200
- ▶ **Ahmet TOPAL, Fikret ÇELEBİ.** Hiperisin'in İzole Edilmiş Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi (*Effects of Hypericin on Gastric Acid Secretion in Isolated Rat Stomach*). 201-208
- ▶ **Muammer TİLKİ, Birol GÜL, Mehmet SARI, Kadir ÖNK, Serpil IŞIK.** Yetiştirici Koşullarındaki Yerli Türk Kazlarının Büyüme, Kesim ve Karkas Özellikleri (*Growth, Slaughter and Carcass Traits of Native Turkish Geese Reared under the Countryside Conditions*). 209-215
- ▶ **Zeynep PEKCAN, Miyase ÇINAR, Mehmet GÜRKAN, Ali KUMANDAŞ.** Ankara Keçilerinde Propofol ve İzofluran Anestezişinin Oksidatif Stres Üzerine Etkileri (*The Effects of Propofol and Isoflurane Anaesthesia on Oxidative Stress in Angora Goats*). 217-222
- ▶ **Mukadder SUNAR, Zekeriya ÖZÜDOĞRU.** Işık Stresi Uygulanan Bildirincilerin (*Coturnix coturnix japonica*) İnce Barsaklarında Gözlenen Mikroskopik Değişikliklerin İncelenmesi (*The Evaluation of Microscopic Changes in the Small Intestines of Quails (Coturnix coturnix japonica) Exposed the Light Stress*). 223-229
- ▶ **Nazan KESKİN, Pınar İLİ.** Denizli Horozu Genital Sistemi Üzerinde Histokimyasal Araştırmalar (*Histochemical Investigations on the Reproductive System in Denizli Cock*). 231-237

Olgu Sunumu / Case Report

- ▶ **Yavuz Selim SAĞLAM, Kübra Asena TERİM KAPAKİN, İbrahim BALKAYA.** Bir Ceylanda (*Gazelle gazelle*) Hidatid Kist Olgusu (*Hydatid Cysts in a Gazelle (Gazelle gazelle): A case report*). 239-243

Derlemeler / Reviews

- ▶ **Murat KARA, Mükremin Özkan ARSLAN.** Kuzeydoğu Anadolu'da Hayvanlarda ve İnsanlarda Myiasis (*Myiasis in Animals and Humans in Northeastern Anatoli*) 245-250
- ▶ **Ahmet GÜNER, Nihat TELLİ.** *Cronobacter sakazakii*'nin Gıda Mikrobiyolojisindeki Önemi (*The Importance of Cronobacter sakazakii in Food Microbiology*). 251-263