

ISSN: 1306-6137  
e-ISSN: 2147-9615



*Atatürk Üniversitesi  
Veteriner Bilimleri Dergisi*

*Atatürk University Journal of  
Veterinary Sciences*

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ataunivbd>

*Yıl/Year: 2014*

*Cilt/Volume: 9*

*Sayı/Number: 3*



*Atatürk Üniversitesi  
Veteriner Bilimleri Dergisi*

ISSN 1306 – 6137  
e-ISSN 2147 – 9615

*Atatürk University  
Journal of Veterinary Sciences*

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

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR  
Dekan / Dean

**Editör / Editor-in-Chief**

Doç. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ

**Editör Yardımcıları / Associate Editors**

Doç. Dr. Ertan ORUÇ  
Doç. Dr. Emre KARAKUŞ  
Yrd. Doç. Dr. Emrah Hicazi AKSU  
Yrd. Doç. Dr. Elif DOĞAN

**İngilizce Danışmanı / English Adviser**

Prof. Dr. Ömer UÇAR

**Dizgi / Typesetter**

Arş. Gör. Hüseyin Serkan EROL

**Web Tasarım / Web Designer**

Doç. Dr. 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, EBSCO** 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, EBSCO and Türkiye Citation Index.*

**Yazışma Adresi / Correspondence Address**

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü  
25240, Kampüs/Erzurum-TÜRKİYE  
Tel : +90 442 2314730, Fax: +90 442 2315563  
E-posta: atavetderg@hotmail.com; vetdergisi@atauni.edu.tr

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Araştırma Makaleleri / Research Articles

Sayfa /  
Page

- Nebahat POLAT, Mehmet GÜL.** Aflatoxin Levels in Roughage, Concentrates, Compound Feed and Milk Samples from Dairy Farms in Erzurum Province (*Erzurum Bölgesinde Süt Sığırları İşletmelerinden Alınan Kaba, Konsantre, Karma Yem ve Süt Örneklerinde Aflatoksin Düzeyleri*). 149-156
- Seyit Ali BİNGÖL, Nurhayat YECAN GÜLMEZ, Turgay DEPREM, Serap KORAL TAŞCI, Şahin ASLAN.** Histologic and Histometric Examination of Spleen in Geese (*Anser anser*) (*Kaz (Anser anser) Dalak Dokusunda Histolojik ve Histometrik İnceleme*). 157-162
- Mehmet Akif YÖRÜK , Taylan AKSU, Mehmet GÜL.** Farklı Kuru Madde Düzeyi Esasına Göre Hazırlanan Şeker Pancarı Posası Silajlarının, Silaj Kalitelerinin ve Rumen Yıkılabilirliklerinin Tespit Edilmesi (*Determination of Silage Quality and Ruminant Dry Matter Degradability of Sugar Beet Pulp Silages Ensilaged on The Basis of Different Dry Matter Levels*). 163-172
- Fatma GÜR, Şükrü BEYDEMİR, Kenan GÜMÜŞTEKİN, Nuri BAKAN.** Ketoprofenin 6-Fosfoglukonat Dehidrogenaz Aktivitesi Üzerine *In Vitro* ve *In Vivo* Etkisinin Araştırılması (*In Vitro and In Vivo Effect of Ketoprofen on 6-Phosphogluconate Dehydrogenase Enzyme Activity*). 173-179
- Bahat COMBA, Leyla MİS, Arzu COMBA, Ali ÇINAR, Abuzer TAŞ.** Deneysel Olarak Diabet Oluşturulmuş Ratlarda Yara İyileşmesinde Sildenafil Sitratin Bazı Hematolojik Parametrelere ve Mineral Maddelere Etkisi (*The Effects of Sildenafil Citrate on Some Haematological Parameters and Mineral Matters in Wound Healing of Rats Created Experimental Diabetes*). 180-186
- Birten EMRE, Ömer KORKMAZ, Abuzer Kafar ZONTURLU.** Sütçü İneklerde Ovsynch Protokolünde İkinci GnRH Uygulamasının Geciktirilmesinin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi (*The Effect of Delaying the Administration of Second GnRH in the Ovsynch Protocol on Pregnancy Rate in Dairy Cows*). 187-193

Olgu Sunumları / Case Reports

- Ekrem Çağatay ÇOLAKOĞLU, Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU, Hadi ALİHOSEİNİ.** Shar-pei Irkı Bir Köpekte Kutanöz Mucinosis ve Mastositozis (*Cutaneous Mucinosis and Mastocytosis in a Shar-pei Breed Dog*). 194-197

Derlemeler / Reviews

- Orçun CANNAZİK, Bülent POLAT.** Kök Hücre ve Veteriner Hekimlikte Uygulama Alanları (*Stem Cells and Their Use in Veterinary Medicine*). 198-205
- Ali Doğan ÖMÜR.** Dişi Genital Kanalda Sperm Hücrelerinin İlerlemesini Sağlayan Faktörler (*The Factors Ensuring the Progress of Sperm Cells in the Female Genital Tract*). 206-212
- H. Turan AKKOYUN, Mahire BAYRAMOĞLU, Suat EKİN, Fikret ÇELEBİ.** D Vitamini ve Metabolizma İçin Önemi (*Vitamin D and Its Importance for the Metabolism*). 213-219

## DANIŞMA KURULU – ADVISORY BOARD

- Dr. A. Doğan Ömür, TÜRKİYE.
- Dr. A. Kürşat Azkur, TÜRKİYE.
- Dr. A. Mohamed Safiullah, HİNDİSTAN.
- Dr. Ahmet Ayyıldız, TÜRKİYE.
- Dr. Ahmet Gümen, TÜRKİYE.
- Dr. Ahmet Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. Akın Kırbaş, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Belge, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Karadeniz, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Kaygısız, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Rıza Aksoy, TÜRKİYE.
- Dr. Ali Yiğit, TÜRKİYE.
- Dr. Alkan Kamiloğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Arif Kurtdede, TÜRKİYE.
- Dr. Armağan Çolak, TÜRKİYE.
- Dr. Ayhan Düzler, TÜRKİYE.
- Dr. Aysun Çevik, TÜRKİYE.
- Dr. Bahri Bayram, TÜRKİYE.
- Dr. Barış Sarı, TÜRKİYE.
- Dr. Başak Hanedan, TÜRKİYE.
- Dr. Betül Apaydın Yıldırım, TÜRKİYE.
- Dr. Bülent Polat, TÜRKİYE.
- Dr. Cahit Kalkan, TÜRKİYE.
- Dr. Canan Bölükbaşı Aktaş, TÜRKİYE.
- Dr. Cavit Aslan, TÜRKİYE.
- Dr. Ceyhan Özbeyaz, TÜRKİYE.
- Dr. D. Ali Çınar, TÜRKİYE.
- Dr. Daniel Zahner, ALMANYA.
- Dr. Demet Çelebi, TÜRKİYE.
- Dr. Derviş Özdemir, TÜRKİYE.
- Dr. Duygu Baki Acar, TÜRKİYE.
- Dr. E. Hicazi Aksu, TÜRKİYE.
- Dr. E. Ümran Bozkurt, TÜRKİYE.
- Dr. Ebru Çetin, TÜRKİYE.
- Dr. Ebru Karadağ Sarı, TÜRKİYE.
- Dr. Ekrem Kireççi, TÜRKİYE.
- Dr. Ekrem Laçın, TÜRKİYE.
- Dr. Elif Doğan, TÜRKİYE.
- Dr. Emre Karakuş, TÜRKİYE.
- Dr. Emrullah Eken, TÜRKİYE.
- Dr. Erdoğan Uzlu, TÜRKİYE.
- Dr. Erhan Özenç, TÜRKİYE.
- Dr. Ertan Oruç, TÜRKİYE.
- Dr. Ertuğrul Elma, TÜRKİYE.
- Dr. F. Mehmet Kandemir, TÜRKİYE.
- Dr. Faruk Bozkaya, TÜRKİYE.
- Dr. Fatih Hatipoğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Fatih Yıldırım, TÜRKİYE.
- Dr. Ferda Belge, TÜRKİYE.
- Dr. Feyyaz Önder, TÜRKİYE.
- Dr. Fikret Çelebi, TÜRKİYE.
- Dr. Gaffari Türk, TÜRKİYE.
- Dr. Gökhan Eraslan, TÜRKİYE.
- Dr. Güler Yenice, TÜRKİYE.
- Dr. Gülşah Çanakçı Adıgüzel, TÜRKİYE.
- Dr. Gültekin Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. H. Hüseyin Dönmez, TÜRKİYE.
- Dr. Hakan Uslu, TÜRKİYE.
- Dr. Hakan Yalçın, TÜRKİYE.
- Dr. Halis Oğuz, TÜRKİYE.
- Dr. Halit İmik, TÜRKİYE.
- Dr. Hasan Hüseyin Dönmez, TÜRKİYE.
- Dr. Hasan Solmaz, TÜRKİYE.
- Dr. Hatice Erdost, TÜRKİYE.
- Dr. Hayrunnisa Nadaroğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Hüdaverdi Erer, TÜRKİYE.
- Dr. Hüseyin Karadağ, KIRGIZİSTAN.
- Dr. Irena Celeska, MAKEDONYA.
- Dr. İbrahim Akın, TÜRKİYE.
- Dr. İhsan Keleş, TÜRKİYE.
- Dr. İlker Çamkerten, TÜRKİYE.
- Dr. İsmail Bayram, TÜRKİYE.
- Dr. K. Kaan Tekinşen, TÜRKİYE.
- Dr. K. S-Genswein, KANADA.
- Dr. Kamran Sharifi, İRAN.
- Dr. Kemal Kırıkçı, TÜRKİYE.
- Dr. Kerem Ural, TÜRKİYE.
- Dr. Kübra Terim Kapakin, TÜRKİYE.
- Dr. L. Emrah Yanmaz, TÜRKİYE.
- Dr. Levan Makaradze, GÜRCİSTAN.
- Dr. Levent Ergün, TÜRKİYE.
- Dr. M. Akif Yörük, TÜRKİYE.

## DANIŖMA KURULU – ADVISORY BOARD

- Dr. M. Bünyamin Halıcı, TÜRKİYE.
- Dr. M. ağrı Karakurum, TÜRKİYE.
- Dr. M. Karan Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. M. zkan Arslan, TÜRKİYE.
- Dr. M. zkan Timurkan, TÜRKİYE.
- Dr. Mahir Hajiyeu, AZERBAYCAN.
- Dr. Mehmet Akan, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet ay, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet Elmalı, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet Gl, TÜRKİYE.
- Dr. Mehmet Topal, TÜRKİYE.
- Dr. Melih Aksoy, TÜRKİYE.
- Dr. Meral Aydenizz, TÜRKİYE.
- Dr. Meryem Aydemir Atasever, TÜRKİYE.
- Dr. Meryem Eren, TÜRKİYE.
- Dr. Mete Cihan, TÜRKİYE.
- Dr. Mete Yanar, TÜRKİYE.
- Dr. Metin Bayraktar, TÜRKİYE.
- Dr. Mihai Mares, ROMANYA.
- Dr. Muammer Tilki, TÜRKİYE.
- Dr. Muhamed Katica, BOSNA-HERSEK.
- Dr. Mukadderat Gökmen, TÜRKİYE.
- Dr. Murat Kanbur, TÜRKİYE.
- Dr. Musa zgr zyiğit, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Atasever, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa İssi, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa zkaraca, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Sönmez, TÜRKİYE.
- Dr. Mustafa Tayar, TÜRKİYE.
- Dr. Mürvet Tuncel, TÜRKİYE.
- Dr. N. Deniz Ayaz, TÜRKİYE.
- Dr. Naci Tüzemen, TÜRKİYE.
- Dr. Nazmi etin, TÜRKİYE.
- Dr. Necmi zdemir, TÜRKİYE.
- Dr. Nejdeu ŖimŖek, TÜRKİYE.
- Dr. Nilüfer Sabuncuğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Numan Akyol, TÜRKİYE.
- Dr. Nurcan Dönmez, TÜRKİYE.
- Dr. O. İrfan İlhak TÜRKİYE.
- Dr. Okan Ertuğrul, TÜRKİYE.
- Dr. Orhan Akman, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer Akbulut, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer Atalar, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer oban, TÜRKİYE.
- Dr. Ömer Uçar, TÜRKİYE.
- Dr. Özgür İŖleyici, TÜRKİYE.
- Dr. Özgür Kaynar, TÜRKİYE.
- Dr. Pınar Tatlı Seven, TÜRKİYE.
- Dr. S. Serap Birincioğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Sait Ŗendađ, TÜRKİYE.
- Dr. Ŗekin Özkanlar, TÜRKİYE.
- Dr. Sedat Yıldız, TÜRKİYE.
- Dr. Semiha Dede, TÜRKİYE.
- Dr. Semin Gedikli, TÜRKİYE.
- Dr. Semra GmŖova, TÜRKİYE.
- Dr. Serkal Gazyağcı, TÜRKİYE.
- Dr. Serpil Sariozkan, TÜRKİYE.
- Dr. Seval Dağalp, TÜRKİYE.
- Dr. Seyda Cengiz, TÜRKİYE.
- Dr. Seyyal Ak, TÜRKİYE.
- Dr. Songül akmakı, TÜRKİYE.
- Dr. Ŗ. Hakan Atalgın, TÜRKİYE.
- Dr. Ŗaban Çelebi, TÜRKİYE.
- Dr. Ŗahin Aslan, TÜRKİYE.
- Dr. Ŗkriye Aras Hisar, TÜRKİYE.
- Dr. Tatiana Siskova, RUSYA.
- Dr. Tayfur Bekyrek, TÜRKİYE.
- Dr. Telman İsgenderov, AZERBAYCAN.
- Dr. Turan Karaca, TÜRKİYE.
- Dr. Urfan Turabov, AZERBAYCAN.
- Dr. Yavuz Cevger, TÜRKİYE.
- Dr. Yıldıray Kalkan, TÜRKİYE.
- Dr. Yunusemre Özkanlar, TÜRKİYE.
- Dr. Yusuf zŖensoy, TÜRKİYE.
- Dr. Z. Gökalp Ceylan, TÜRKİYE.
- Dr. Zafer Bulut, TÜRKİYE.
- Dr. Zafer OkumuŖ, TÜRKİYE.
- Dr. Zahid Ağaoğlu, TÜRKİYE.
- Dr. Zekeriya zdoğru, TÜRKİYE.

## Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2014; 9(3)

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

- Prof. Dr. Armağan ÇOLAK, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Dursunali ÇINAR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Hatice ERDOST, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Ömer UÇAR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Pınar TATLI SEVEN, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Ali KARADENİZ, Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. İlker ÇAMKERTEN, Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mustafa Numan BUCAK, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. N. Tuğba BİNGÖL, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Serpil SARIÖZKAN, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Bülent POLAT, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Çağrı Cenker CINGI, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Duygu BAKİ ACAR, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU, Atatürk Üniversitesi, Erzurum Meslek Yüksekokulu, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU, Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Latif Emrah YANMAZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.

\* Hakem listesi akademik unvan ve isme göre alfabetik olarak sıralanmıştır.



## Aflatoxin Levels in Roughage, Concentrates, Compound Feed and Milk Samples from Dairy Farms in Erzurum Province\*

Nebahat POLAT<sup>1</sup>, Mehmet GÜL<sup>2</sup>✉

1. Ministry of Food, Agriculture and Livestock–Directorate of the Erzurum, TURKEY.
2. Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutrition Disease, Erzurum, TURKEY.

**Abstract:** Aflatoxin in roughage, concentrates and compound feed from dairy farms located in Erzurum province, and the presence of Aflatoxin M<sub>1</sub> (AFLM<sub>1</sub>) in the milk of animals fed with these feeds were determined in four different seasons. The mean level of Aflatoxin M<sub>1</sub> detected in milk samples was 0.03 ppb. Aflatoxin M<sub>1</sub> levels in the milk samples taken from the holdings were lower in autumn and summer (0.02 ppb) compared to winter and spring (0.04 ppb). The total aflatoxin levels in feed samples were higher in spring and summer, compared to autumn and winter. Furthermore, Aflatoxin B<sub>1</sub> (AFLB<sub>1</sub>) levels in roughage, concentrate and compound feed were significantly higher in spring and summer, compared to autumn and winter (P<0.01). The results obtained in this study demonstrated that Aflatoxin B<sub>1</sub> received with compound feed by cattle led to a carry-over of Aflatoxin M<sub>1</sub> into milk at a level of 1.219±0.4139%. The mycotoxin levels detected were below the maximum residue limits laid down in the Turkish Food Codex.

**Key words:** Compound feed, Concentrate, Milk, Mycotoxin, Roughage.

## Erzurum Bölgesinde Süt Sığırı İşletmelerinden Alınan Kaba, Konsantre, Karma Yem ve Süt Örneklerinde Aflatoksin Düzeyleri

**Özet:** Erzurum bölgesinde bulunan süt sığırı işletmelerinden kaba, konsantre ve karma yemde aflatoksin ve bu yemlerle beslenen hayvanların sütünde Aflatoksin M<sub>1</sub> (AFLM<sub>1</sub>) varlığı dört farklı dönemde tespit edildi. Süt örneklerinde tespit edilen ortalama aflatoksin düzeyi 0.03 ppb'dir. İşletmelerden alınan süt örneklerindeki aflatoksin düzeyleri kış ve ilkbaharla (0.04 ppb) mukayese edildiğinde sonbahar ve yazın (0.02 ppb) düşük bulundu. Yem örneklerindeki total aflatoksin düzeyleri kış ve sonbahar ile mukayese edildiğinde ilkbahar ve yazın daha yüksek bulundu. Bundan başka, kaba, konsantre ve karma yemlerdeki Aflatoksin B<sub>1</sub> (AFLB<sub>1</sub>) düzeyleri sonbahar ve kış ile mukayese edildiğinde ilkbahar ve yazın önemli derecede yüksek bulunmuştur (P<0.01). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar karma yemde aflatoksin B<sub>1</sub> e maruz kalan süt sığırlarının sütüne % 1.219±0.4139 oranında geçtiği tespit edildi. Tespit edilen mikotoksin düzeylerinin Türk Gıda Kodeksi tarafından belirtilen sınırların altında olduğu tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** Kaba, Karma, Konsantre yem, Mikotoksin, Süt.

✉ Mehmet GÜL

Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutrition Disease, Erzurum, TURKEY.  
e-mail: mehgul@atauni.edu.tr

\*This study was supported as a project on the postgraduate thesis by the Scientific Research Committee of Atatürk University, (the project number: BAP 2010/150) and present manuscript was summarized from the postgraduate thesis of Nebahat POLAT.

## INTRODUCTION

In the past decades, aflatoxins giving their negative impact on animal health and animal health economics have drawn great attention, and the potential risk of their residues pose for public health (Kaya, 2007). Apart from the significance they bear for animal nutrition, feed stuffs also constitute a favourable medium for the growth and reproduction of microorganisms. Under inappropriate growth, harvesting, processing and storage conditions, the feed may be contaminated with microorganisms. The microbial contamination of feed may result in the spoilage and loss of nutritional value within a short period of time, and may also damage the health of animals. As a result of their metabolism, some fungi produce and release into the environment they reproduce, toxic substances referred to as "mycotoxins" (Steyn and Stander, 1999).

The two compounds of mycotoxins, firstly, which were observed to give blue fluorescence under ultraviolet (UV) light were named as AFLB<sub>1</sub> (Aflatoxin B<sub>1</sub>) and AFLB<sub>2</sub> (Aflatoxin B<sub>2</sub>), and the other two compounds determined to give yellowish green fluorescence were named as AFLG<sub>1</sub> and AFLG<sub>2</sub>. Later, it was ascertained that a derivative of these toxins was found in the milk of dairy animals fed with aflatoxin-contaminated feed. Owing to its presence in milk, this toxin was named as the "milk toxin", in short Aflatoxin M. Research on Aflatoxin M has shown that this metabolite is a 4-hydroxy derivative of AFLB<sub>1</sub> and AFLB<sub>2</sub>, thus, two compounds, referred to as AFLM<sub>1</sub> and AFLM<sub>2</sub> have been isolated (Wood 1991; Van Egmond 1994). Based on these data, the maximum limit of AFLM<sub>1</sub> allowed in milk has been set as either 0.05 or 0.5 ppb in several countries (Arbillaga et al., 2007). In Turkey, the *Communiqué No. 2009/22 Amending the Communiqué No. 2008/26 on the Maximum Limits of Contaminants in Food Substances*, which was published in the Official Gazette in 2009 lays down the maximum limits of aflatoxin allowed in various food products. Accordingly, the maximum

limit of aflatoxin has been set as 5.0 µg/kg for nuts, 8.0 µg/kg for groundnuts, 2.0 µg/kg for cereals, and 0.050 µg/kg (AFLM<sub>1</sub>) for milk. The most recent legal arrangement regulating this issue is the *Communiqué No. 2009/22* published in 2009, which is still in force (Anonymous, 2009).

It has been reported that, across the globe, around 4.5 million people are exposed to uncontrollably increasing chronic aflatoxicosis (Williams et al., 2004). Researches conducted suggest that the exposure to AFLB<sub>1</sub> and the development of primary hepatocellular carcinoma, which is the seventh most common type of cancer in the world, are associated with each other or that the exposure to Aflatoxin B<sub>1</sub> is the most influential factor on the development of this type of cancer (Vidyasagar et al., 1997).

Therefore, this study was conducted to determine, for different seasons, the mycotoxins (total aflatoxin and aflatoxin B<sub>1</sub>) found in roughage and concentrate feed stored at dairy farms in Erzurum province, and the presence of AFLM<sub>1</sub> in the milk of dairy cattle fed on a mixed ration of concentrate and roughage feed.

## MATERIALS and METHODS

### Collection of Feed and Milk Samples

This study was conducted in 11 farms. It was considered an example of each holding. Feed and milk samples were taken separately an example from each holding in spring (April), summer (July), autumn (October) and winter (December) in 2011 years. Samples of roughage, concentrate and mixed feed ration (roughage + concentrate feed provided to the animals in feed troughs) were collected into sterile plastic sample bags (in volumes of approximately 50 g). Ten-ml milk samples from milk tanks were placed into sterile sample tubes and transferred to the laboratory under cold chain conditions. In order to determine the total aflatoxin and AFLB<sub>1</sub> levels, the feed samples were stored in a deep freezer until analysed.



### Kits Used in the Analysis of the Feed Samples

All samples (milk and feed) were analysed using the ELISA method. The test kits used in the analyses were the Aflatoxin Low Matrix Detection Kit (Helica Biosystem INC; Cat. No: 981AF01LM) for total aflatoxin, the Aflatoxin B<sub>1</sub> Detection Elisa Kit (Helica Biosystem INC; Cat. No: 941BAFL01B1) for AFLB<sub>1</sub>, and the Aflatoxin M<sub>1</sub> Assay Elisa Kit (Helica Biosystem INC; Cat. No: 961AFLM01M) for AFLM<sub>1</sub>. The protocols described by the manufacturer (Helica Biosystem INC) were applied to determine the aflatoxin levels in the samples collected.

### Statistical Analysis

The SPSS v19 statistical software (SPSS 2010)

was used for the analytical and descriptive analyses performed in this study.

### RESULTS

The assessment of the impact of seasons on the level of total aflatoxin in roughage demonstrated that the lowest level was determined in autumn, followed by summer and winter, with the highest level found in spring ( $P<0.01$ ). The results obtained showed that the total aflatoxin levels detected in the concentrate and compound feed in autumn and winter were lower than those determined in spring and summer ( $P<0.01$ ). The mean level of total aflatoxin was 6.692 ppb in roughage, 6.013 ppb in concentrate feed and 7.835 ppb in compound feed (Table 1).

**Table 1.** The levels of total aflatoxin and AFLB<sub>1</sub> in roughage, concentrate and compound feed with respect to season (ppb).

**Tablo 1.** Mevsimlere bağlı olarak kaba, konsantre ve karma yemlerde AFLB<sub>1</sub> ve total aflatoksin düzeyleri (ppb).

Seasons	Spring	Summer	Autumn	Winter	SEM	P
n	11	11	11	11		
RFTA	7.955 <sup>a</sup>	6.825 <sup>b</sup>	5.912 <sup>c</sup>	6.076 <sup>b</sup>	0.1930	**
Con.FTA	6.757 <sup>a</sup>	6.693 <sup>a</sup>	5.197 <sup>b</sup>	5.405 <sup>b</sup>	0.2200	**
Com.FTA	9.187 <sup>a</sup>	8.811 <sup>a</sup>	6.075 <sup>b</sup>	7.267 <sup>b</sup>	0.2630	**
RF AFLB <sub>1</sub>	4.539 <sup>a</sup>	4.429 <sup>a</sup>	1.244 <sup>b</sup>	1.240 <sup>b</sup>	0.0280	**
Con.F AFLB <sub>1</sub>	2.904 <sup>a</sup>	2.852 <sup>a</sup>	1.455 <sup>b</sup>	1.487 <sup>b</sup>	0.0930	**
Com.FAFLB <sub>1</sub>	3.835 <sup>a</sup>	3.577 <sup>b</sup>	1.622 <sup>d</sup>	2.488 <sup>c</sup>	0.0650	**
M AFLM <sub>1</sub>	0.04 <sup>a</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.00	**

\*\* :  $P<0.01$ ; a, b, c: Differences between the mean values shown with different superscripts in the same column were statistically significant. RFTA: Roughage Feed Total Aflatoxin; Con.FTA: Concentrate Feed Total Aflatoxin; Com.FTA: Compound Feed Total Aflatoxin; RF AFLB<sub>1</sub>: Roughage Feed AFLB<sub>1</sub>; Con.F AFLB<sub>1</sub>: Concentrate Feed AFLB<sub>1</sub>; Com.F AFLB<sub>1</sub>: Compound Feed AFLB<sub>1</sub>; M AFLM<sub>1</sub>: Milk AFLM<sub>1</sub>

The effect of season on the AFLB<sub>1</sub> levels of all of the feed types sampled from the holdings was found significant ( $P<0.01$ ). The AFLB<sub>1</sub> level in roughage that the levels detected in autumn and winter were lower than those determined in spring and summer. Similarly, the AFLB<sub>1</sub> levels found in the

concentrate feed in autumn and winter were also lower than those detected in spring and summer. The compound feed included the lowest AFLB<sub>1</sub> level in autumn, followed by winter, spring and summer ( $P<0.01$ ). Furthermore, the season on the AFLM<sub>1</sub> levels detected in milk samples was determined as

significant ( $P < 0.01$ ) and the mean AFLM<sub>1</sub> level in milk was found to be 0.04 ppb in spring and winter and 0.02 ppb in summer and autumn. The differences between the seasons in terms of AFLM<sub>1</sub> levels in milk were detected to be highly significant ( $P < 0.01$ ) (Table 1).

#### DISCUSSION and CONCLUSION

In the past 40 years, the understanding of the significance of mycotoxins has led to multiple studies having been conducted on the mycotoxin contamination of plant products, animal feed, milk and milk products and poultry products (Demirer et al., 1979; Karakaya and Atasever, 2010).

The assessment of the effect of seasons on the mycotoxin contamination levels of roughage revealed that AFLB<sub>1</sub> levels in roughage were lower in autumn and winter, compared to summer and spring. Similarly, AFLB<sub>1</sub> levels in concentrate feed were also observed to be lower in autumn and winter, when compared to spring and summer. In compound feed, AFLB<sub>1</sub> level was the lowest in autumn, followed by winter, spring and summer ( $P < 0.01$ ). Given the seasonal pattern of Erzurum province and the harvest of particularly the feed crops used as roughage in autumn and the adequate drying of these crops prior to storage, it is considered that the season presenting with the lowest risk of mycotoxin contamination at storage is autumn. During the winter season, owing to the storage period after harvest not being very long and the temperature being low, conditions were not favourable for fungal growth, thus marked levels of mycotoxin contamination were not detected in all the feed types. In Erzurum province, the winter season begins shortly after harvest and lasts for a relatively longer period, compared to the other geographical regions of Turkey. Thus, the coming of spring in this province is observed at a later period of the year. In the present study, the assessment of the impact of seasons on the mycotoxin contamination levels of roughage and concentrate feed demonstrated that AFLB<sub>1</sub> levels were lower in

autumn and winter, in comparison to spring and summer. The level of AFLB<sub>1</sub> in compound feed was the lowest in autumn, followed by winter, spring and summer ( $P < 0.01$ ). AFLB<sub>1</sub> determined at higher levels in compound feed during spring and summer, compared to autumn and winter, was attributed to higher weather temperatures and humidity rates as well as to the poor hygiene of feed troughs.

Demirer et al. (1979), upon performing aflatoxin analyses in compound feed and feed stuff samples ( $n=92$ ) reported that the presence of AFLB<sub>1</sub> was detected in only one sample at a level of 30 ppb. Shreeve and Patterson (1977), determined AFLB<sub>1</sub> at a mean level of 0.05 ppm in barley used as a feed stuff. Shotwell et al. (1969a,b), found 3-19 ppb AFLB<sub>1</sub> in 35 out of 1311 maize samples and 7-10 ppb AFLB<sub>1</sub> in 2 out of 866 soybean samples. In a study conducted by Karakaya and Atasever (2010), in Erzurum province, AFLB<sub>1</sub> was reported in 3 out of 72 feed samples (4.16%), and it was indicated that the AFLB<sub>1</sub> levels found in the remaining samples were below the maximum residue limit laid down in the national legislation. In the present study, the assessment of the AFLB<sub>1</sub> levels detected in all roughage, concentrate and compound feed samples taken from the holdings included in the present study were below the maximum limit set for AFLB<sub>1</sub> in the Turkish Food Codex (5 ppb). The findings reported by some researchers (Shreeve and Patterson 1977; Demirer et al., 1979; Karakaya and Atasever, 2010) for Aflatoxin B<sub>1</sub> levels were similar to the results obtained from the present study.

The World Health Organization (WHO) and the United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) have set the maximum level of AFLB<sub>1</sub> that may be allowed in milk as 0.05 ppb (Ruiqian et al., 2004). In Turkey, similarly, the maximum limit of AFLB<sub>1</sub> in milk has been laid down as 0.05 ppb in the national legislation (Anonymous, 2009).

It was determined that the carry-over rate of Aflatoxin B<sub>1</sub> in feed into cows' milk in the form of

$$\text{AFLM}_1 \text{ was } 1.219 \pm 0.04139\% \left[ \left( \frac{\text{AFLM}_1}{\text{AFLB}_1} \right) * 100 \right].$$

In a two-year study conducted in Russia by Tutelyan et al. (1989) for the investigation of the presence of AFLM<sub>1</sub> in milk and milk products (n=250), it was ascertained that the levels of this mycotoxin did not exceed 0.05 µg/L in any of the samples. In another study carried out in Germany, of the pasteurized milk samples collected from the market and analysed for AFLM<sub>1</sub> (n=473) only 19 presented with a contamination level exceeding 0.05 µg/L (Heeschen et al., 1990). In a study conducted in the USA, AFLM<sub>1</sub> was detected in any of the 182 milk and milk product samples analysed for the presence of AFLM<sub>1</sub> (Anonymous, 1992). In Turkey, several studies have been performed to investigate AFLM<sub>1</sub> levels in milk (Demirer et al., 1979; Dağoğlu et al., 1995; Sarımehtemoğlu et al., 2000; Bakırcı, 2001; Özkaya et al., 2002; Mavuş, 2003; Akdemir and Altıntaş, 2004; Gurbay et al., 2005; Karakaya and Atasever, 2010). Demirer et al. (1979) reported that no detectable levels of AFLM<sub>1</sub> were encountered in any of the 150 raw milk samples analysed. In another study, in which 90 milk samples were taken from the Faculty of Agriculture of Yüzüncü Yıl University, 79 samples were determined to contain AFLM<sub>1</sub> and in 35 of these samples the mycotoxin level was found to be above the maximum limit (0.05 ppb) (Bakırcı, 2001). In an investigation performed on 360 raw milk samples taken from various provinces of Turkey, 159 of the samples (44.3%) contained AFLM<sub>1</sub> at a maximum level of 1.4 µg/L and 48 of these (13.3%) were contaminated with the levels exceeding the maximum limit allowed in Turkey (Özkaya et al., 2002). Out of 85 pasteurized milk samples, 75 (88.23%) were determined to contain AFL and in 48 of these samples (64%) the aflatoxin levels were above the maximum limit set in Turkey (50 ng/kg<sup>-1</sup>) (Sarımehtemoğlu et al., 2000). In an investigation conducted in 2003 in Kayseri province, out of 90 milk samples analysed, 15 were detected to be contaminated with AFLM<sub>1</sub> levels above the maximum limit set in the Turkish Food Codex (50ppb) (Mavuş, 2003). In another research

conducted in Ankara province, 48 raw milk samples were analysed for AFLM<sub>1</sub> and 70.83% of the samples were determined to contain AFLM<sub>1</sub>, 33.3% of which were contaminated with the levels exceeding the maximum limit allowed in Turkey (0.05 ppb) (Akdemir and Altıntaş, 2004). In an investigation carried out in the same region, only 1 sample was detected to contain an AFLM<sub>1</sub> level above the maximum limit laid down in the Turkish Food Codex (Gurbay et al., 2005). Another study reported that none of the 72 milk samples analysed contained AFLM<sub>1</sub> levels exceeding the legal maximum limit (Karakaya and Atasever, 2010). The results obtained herein demonstrated the presence of AFLM<sub>1</sub> in all the milk samples analysed, but within the legally allowed limits. The general mean value of AFLM<sub>1</sub> was calculated as 0.003 ppb. The results of the present study differed from the findings reported by some researchers (Dağoğlu et al., 1995; Sarımehtemoğlu et al., 2000; Bakırcı 2001; Özkaya et al., 2002; Mavuş, 2003; Akdemir and Altıntaş, 2004) and displayed similarity to the results reported by others (Demirer et al., 1979; Tutelyan et al., 1989; Heeschen et al., 1990; Gurbay et al., 2005). Furthermore, the results of the present study were observed to be in parallel with another study conducted by Karakaya and Atasever (2010) in the same region. Multiple studies have demonstrated Aflatoxin M<sub>1</sub> levels in milk to vary with season (Van Egmond, 1989; Wood, 1991; Bakırcı, 2001; Özkaya et al., 2002; Akdemir and Altıntaş, 2004; Kamkar, 2005). Due to the concentrate feed either being added at lower levels or not being incorporated into the feed ration of dairy animals in summer (Wood, 1991; Sarımehtemoğlu et al., 2003) and in view of dairy cattle consuming greater amounts of compound feed in winter and spring compared to summer and autumn, it has been reported that higher levels of AFLM<sub>1</sub> are indicated in milk during the cold seasons, compared to the warm seasons. The comparative assessment of seasons for mycotoxin contamination revealed that the highest level of contamination was observed in spring with

differences between the other seasons as well (Özkaya et al., 2002). In a study conducted in Iran, 111 raw milk samples were analysed for aflatoxin, and it was determined that in 85 of these samples AFLM<sub>1</sub> levels ranged between 0.015-0.28 µg/l. The lowest aflatoxin level was determined in August and the highest level was measured in December. Levels of AFLM<sub>1</sub> were found to be higher in January, February, April and December compared to the remaining months of the year (Kamkar, 2005). The results obtained for AFLM<sub>1</sub> levels in the present study were in parallel with those previously reported by other researchers (Wood, 1991; Bakirci, 2001; Özkaya et al., 2002; Akdemir and Altıntaş, 2004; Kamkar, 2005). The existence of a positive and linear correlation between the level of AFLB<sub>1</sub> ingested by cattle in feed and the level of AFLM<sub>1</sub> in milk has been confirmed by several researchers. The same researchers have pointed out that this correlation may vary with individual cattle, milking time and interval. Research on the carry-over of mycotoxins found in contaminated feed into milk has demonstrated that the level of carry-over of mycotoxins from feed into milk varies (Van egmond, 1989; Wood, 1991; Van Egmond, 1994; Gremmels, 2008). Hui (1992) reported that, in case of the presence of AFLB<sub>1</sub> at a level of 20 g/kg in feed, the carry-over of AFLM<sub>1</sub> into milk occurred at a level of 0.06 g/kg AFLM<sub>1</sub>. Rodricks and Stoloff (1977) indicated that the concentration of AFLB<sub>1</sub> in feed is 34-1600 times greater than the concentration of AFLM<sub>1</sub> in milk. In various researches, this rate has been reported to be 0.8-2.2% (Patterson et al., 1980; Sarımeahmetoğlu and Küplülü, 2004). In the present study, the level of the carry-over of AFLB<sub>1</sub> in compound feed into cows' milk in the form of AFLM<sub>1</sub> was determined as 1.219±0.4139%. This result is in parallel with the values previously reported by other researchers (Patterson et al., 1980; Sarımeahmetoğlu and Küplülü, 2004).

In conclusion, the assessment of the total aflatoxin and AFLB<sub>1</sub> levels indicated in feed and the AFLM<sub>1</sub> levels detected in milk demonstrated that

the AFLB<sub>1</sub> levels in both roughage and concentrate feed were within the normal limits. These favourable results were attributed to the right harvesting season having been selected, the feed having been well dried and the storage conditions (temperature, humidity, feed trough hygiene, etc.) being proper. Attention should be paid to avoiding the feeding of animals with spoilt, moulded and contaminated feed. Furthermore, such material should not be used as bedding. It may not always be possible to determine the level of mould growth macroscopically. Therefore, it is suggested that particularly during the winter and spring months, the large-scale animal holdings operating in the region should have their feed analysed for mycotoxins of major concern. The conduct of further detailed studies on the prevention of the contamination of feed with mycotoxins by taking measures at the stages of the growth, harvesting and storage of feed crops would contribute greatly to the protection of both human and animal health. It is considered that the routine analysis of milk and milk products for AFLM<sub>1</sub> is of utmost significance as these products have an important place in the nutrition of humans.

## REFERENCES

- Akdemir Ç., Altıntaş A., 2004. Investigation of aflatoxin-M1 incidence and levels in milk processed in Ankara by HPLC. *Veterinary Journal of Ankara University*, 51, 175-179.
- Anonymous, 2009. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın Resmi Gazetede yayımlanan Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2009/22).
- Arbillaga L., Azqueta A., Ezpeleta O., Lopez De Cerain A., 2007. Oxidative DNA damage induced by Ochratoxin A in the HK-2 human kidney cell line: Evidence of the relationship with cytotoxicity. *Mutagenesis*, 22, 35-42.
- Anonymous, 1992. Aflatoxin food protection report. Publication monthly by Charles Felix Association, 8, 1.
- Bakirci I., 2001. A study on the occurrence of

- aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products produced in van province of Turkey. *Food Control*, 12, 47-51.
- Dağoğlu G., Keleş O., Yıldırım M., 1995. Investigation of aflatoxin levels in cheese by ELISA method. *Journal of the faculty of Veterinary Medicine Istanbul University*, 21, 313-317.
- Demirer MA., Akkılıç M., Özalp E., Kaymaz Ş., Dinçer B., Akşehirli E., 1979. The investigation of aflatoxin B1 in some mixed animal feeds and feed raw materials marketed in Turkey. *Veterinary Journal of Ankara University*, 26, 169-184.
- Gremmels JF., 2008. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. *Food Additives & Contaminants*, 25, 172-180.
- Gurbay A., Aydın S., Girgin G., Engin AB., Sahin G., 2005. Assessment of aflatoxin M1 levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control*, 17, 1-4.
- Heeschen W., Bluthgen AH., Hahn G., 1990. Aflatoxin M1 in pasteurized in milk. *Brief Communications of the XXII Inter. Dairy Congress, Brussels, IDF Montreal*, 1: 131.
- Hui YH., 1992. *Dairy Science and Technology Handbook USA*, 1352.
- Kamkar A., 2005. A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control*, 16, 593-599.
- Karakaya M., Atasever M., 2010. Aflatoxin B1 in corn silage and its probability passing in milk. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine Kafkas University*, 16 (Suppl-A), 123-127.
- Kaya Ş., 2007. Yem kaynaklarında mikotoksinler, etkileri ve alınacak önlemler. *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12, 17-26.
- Mavuş H., 2003. Kayseri yöresinde satışı sunulan sütlerden aflatoksin tayini. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Ankara.
- Özkaya Ş., Basaran A., Kaymak T., Dikmen O., Kocabey M., Demirkazık G., Altındis G., Ramiz R., 2002. Gıda ve yemlerde mikotoksin düzeylerinin tespiti, Bölüm 1; Türkiye’de üretilen süt ve peynirlerde aflatoksin M1 aranması: Gıdalarda katkı, kalıntı ve bulasanlarının izlenmesi Ankara: Tarım ve Köyisleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ufuk Ofset Ltd. Sti.
- Patterson DSP., Glancy EM., Roberts BA., 1980. The “carry over” of aflatoxin M1 into milk of cows fed rations containing a low concentration of aflatoxin B1. *Food Cosmetic Toxicology*, 18, 35-37.
- Ruiqian L., Qian Y., Thanaboripat D., Thansukon P., 2004. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *KMITL Science and Technology Journal*, 4, 1685-2044.
- Rodricks JV., Stoloff L., 1976. Aflatoxin residues in edible tissues of food-production animals resulting from feed contamination. *Proc. Annual Meet U S Animal Health Association*. 442-456.
- Sarımehmetoğlu B., Çelik TH., Özdemir H., 2000. Pastörize sütlerde ELISA yöntemiyle Aflatoksin M1 varlığının ve düzeylerinin saptanması, IV. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara., 16-17.
- Sarımehmetoğlu B., Küplülü Ö., Çelik TH., 2003. Detection of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Cheese Samples by ELISA. *Food Control*, 15, 45-49.
- Sarımehmetoğlu B., Küplülü Ö., 2004. Binding ability of Aflatoxin M<sub>1</sub> to yoghurt bacteria. *Veterinary Journal of Ankara University*, 51, 195-198.
- Shreeve BJ., Patterson DSP., 1977. TDC article mycotoxicosis. *Veterinary Record*, 97, 279-280.
- Shotwell OL., Hesseltine CW., Burmeister HR., Kwolek WF., Shannon GM., Hall HH., 1969a. Survey of cereal grains and soybeans for the presence of aflatoxin: I. Wheat grain sorghum, and oats. *Cereal Chemistry*, 46, 446-454.
- Shotwell OL., Hesseltine CW., Burmeister HR., Kwolek WF., Shannon GM., Hall HH., 1969b. Survey of cereal grains and soybeans for the presence of aflatoxin: II. Corn and soybeans. *Cereal Chemistry*, 46, 454-463.
- SPSS. 2010. v 19 SPSS for Windows release 10.01. SPSS Inc., Chicago.
- Steyn PS., Stander MA., 1989. Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and

- Fumonisin. *General and Applied Toxicology* 2<sup>nd</sup> edition United Kingdom: Macmillan Reference Ltd, 2145-2176.
- Tutelyan VA., Sobolev VS., Rybakova NV., Eller KI., 1989. A survey using normal phase HPLC of aflatoxins in domestic and important foods and dairy products in the USSR. *Food Additives & Contaminants*, 6, 459-465.
- Van Egmond HP., 1989. Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. *Food Additives & Contaminants*, 6, 139-188.
- Van Egmond HP., 1994. Aflatoxin in milk, *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary Agricultural Significant Academy Press Inc.*, 365-381.
- Vidyasagar T., Sujatha N., Sashidhar RB., 1997. Determination of aflatoxin B1-DNA adduct in rat liver by enzyme immunoassay. *The Analyst*, 122, 609-613.
- Williams JH., Phillips TD., Jolly PE., Stiles JK., Jolly CM., Aggarwal D., 2004. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences and interventions. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 1106-1122.
- Wood G., 1991. Aflatoxin M1. In R. P. Sharma and D. K. Salunkhe (Eds.), *Mycotoxins and phytoalexins*. P. London: CRC 145-163.



## Histologic and Histometric Examination of Spleen in Geese (*Anser anser*)\*

Seyit Ali BİNGÖL<sup>1✉</sup>, Nurhayat YECAN GÜLMEZ<sup>2</sup>, Turgay DEPREM<sup>3</sup>, Serap KORAL TAŞCI<sup>3</sup>,  
Şahin ASLAN<sup>3</sup>

1. Kafkas University, Kars School of Health Sciences, Kars, TURKEY.
2. Near East University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology-Embryology, Nicosia, NORTHERN CYPRUS.
3. Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology-Embryology, Kars, TURKEY.

**Abstract:** The aim of this study was to examine the histometrical and histological structures of goose (*Anser anser*) spleen. Six healthy female geese were used as material. Tissue samples taken from the spleen were processed routinely, and were then stained with H&E, Crossman's Triple stain and Toluidine blue stain. The spleen surrounded by capsules composed of connective tissue and parts of the capsules were observed increasingly thinning into the spleen as trabeculae. The red pulp area was distinguishable from the white pulp inside the organ; further, the lymph follicles appeared clearly within the white pulp. Histometric measurements revealed that the thickness of the capsules surrounding the organ ranged from 18 to 28 µm. The average thickness of the capsules was measured as 22 µm. The average number of lymph follicles was found to be 2.4 in 1.07 mm<sup>2</sup>. The average width and length of the lymph follicles were measured as 113 µm and 144 µm, respectively. The average diameter of the mast cells was found to be 6 µm. The average number of mast cells was found to be 1.4 in 1.07 mm<sup>2</sup>. Although the histological structures of the geese spleens seemed very similar to those of other animals in several respects, but some specific properties of geese spleens being more similar to that of mammals were also observed.

**Key words:** Goose, Histometry, Lymph follicle, Mast cell, Spleen.

## Kaz (*Anser anser*) Dalak Dokusunda Histolojik ve Histometrik İnceleme

**Özet:** Bu çalışmada Kars'ta yetiştirilen kazların (*Anser anser*) dalağının histolojik ve histometrik olarak incelenmesi amaçlandı. Materyal olarak 10-12 aylık 6 adet dişi kaz kullanıldı. Dalaktan alınan örnekler rutin doku takibinden geçirilerek Crossman'ın üçlü boyaması, Hematoksilen Eosin boyama ve Toluidin mavisi ile boyandı. Kaz dalağının etrafının bağdokudan oluşmuş bir kapsül ile çevrelendiği, trabeküllerin organın içine doğru giderek incelendiği gözlemlendi. Dalak dokusunda beyaz ve kırmızı pulpa alanları birbirinden ayırt edilirken, beyaz pulpada lenf foliküllerinin belirgin olduğu görüldü. Yapılan histometrik ölçümlerde, kaz dalağının çevreleyen kapsül kalınlığı ortalaması 22 µm olarak ölçüldü. Lenf folikülü sayısı 1.07 mm<sup>2</sup> de ortalama 2.4 olarak belirlendi. Mast hücrelerinin ortalama çapı 6 µm olarak ölçüldü. Mast hücre sayısı 1.07 mm<sup>2</sup> de ortalama 1.4 olarak belirlendi. Kaz dalağının histolojik yapısı birçok yönden diğer kanatlılarla benzerlik göstermesine karşın trabeküllerin daha belirgin olması nedeniyle memeli dalağına daha benzer yapıda olduğu görüldü.

**Anahtar kelimeler:** Dalak, Histometri, Kaz, Lenf folikülü, Mastosit.

✉ Seyit Ali BİNGÖL

Kafkas University, Kars School of Health Sciences, Kars, TURKEY.

e-mail: seyitali.bingol@gmail.com

\*This study has already been presented at the XI<sup>th</sup>. National Histology and Embryology Congress (with international contribution), 16-19 May 2012, Denizli, Turkey.

## INTRODUCTION

The spleen is the biggest of the lymphoid organs. Fibrous capsule surrounds the spleen that produces lymphocytes, stores and filters the blood. The capsule extends into the organ as trabeculae. Trabecular arteries and veins are located within the trabeculae. The parenchyma of the spleen called as "pulp". The pulp consists of white and red pulp (Kroese et al., 1987; Asti et al., 1997; Alabay, 2008). Red pulp is an important part of the parenchyma of organ. Furthermore, red pulp is located within the network of white pulp and amongst the trabeculae. The central artery was located mainly eccentrically in the lymph follicle within the white pulp areas (Ross and Pawlina, 2011). Lymphocytes are located in the periarteriolar lymphatic sheath (PALS) and the lymph follicles of the white pulp (Kroese et al., 1987; Asti et al., 1997; Ross and Pawlina, 2011). The spleen contains mast cells. Within the cytoplasm of mast cells, there are granules of histamine and heparin (Straus et al., 1982; Jamur et al., 2005). Except the histamine and heparin, mast cells release essential substances such as eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis, which is the primary mediator of type I anaphylactic hypersensitivity, prostaglandin and slow reacting substance of anaphylaxis (Caughey, 2011). When these cells uptake the basic stains, they may be seen with different coloration as purple-red (metachromatic) (Jamur et al., 2005; Thangapandiyam and Balachandran, 2010). The spleen has an important defensive structure against the microorganisms because it contains a large number of phagocytic cells and is located close to the circulatory system (Alabay, 2008). In contrast to the spleen of other fowls, which is round or oval, the spleen of waterfowls is triangular (Causey Whittow, 2000)

Therefore, the aim of this study was to determine the characteristic properties of spleen of goose, as a species of waterfowl, histometrically and histologically.

## MATERIALS and METHODS

This study has been approved by the Experimental Ethics Committee of Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine (2010/10).

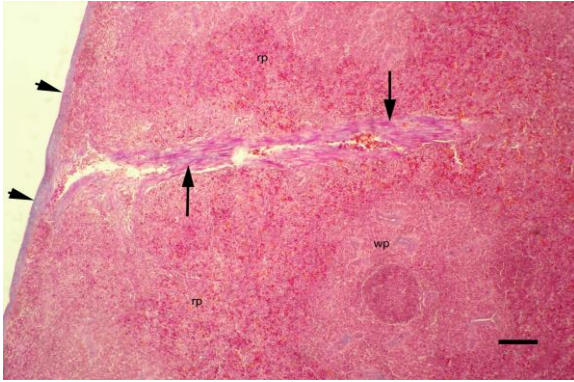
In this study, six healthy female geese (*Anser anser*), aged 10-12 months, were used. Spleen samples were fixed in Bouin's solution for histological and histometrical examinations. The samples were embedded in paraffin. Then, the sections (5 µm thickness) were cut from the paraffin blocks and placed on the slides. Serial sections were stained with Hematoxylin and Eosin (H&E), Crossman's triple stain (Triple stain) and Toluidine blue (Luna, 1968). The slides were examined histologically by light microscopy (Olympus BX-51), and histometrically by an ocular micrometer with 100 squares, which is called as 'area', in the light microscopy. For measuring the length and width of lymph follicles, slides were selected randomly from each subject, and 100 follicles per subject were evaluated in certain areas as determined randomly from each slide selected. The follicles were counted in 100 areas, as selected per subject randomly. The mast cells were counted in 10 areas of each subject on a slide.

**Statistical Analysis:** The averages, standard deviation, maximum and minimum values of the histometric data were calculated using the SPSS 16.0 program.

## RESULTS

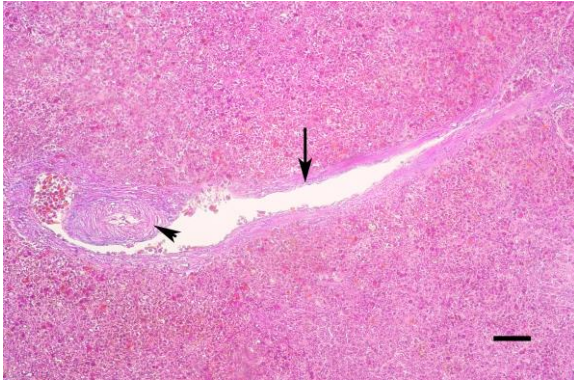
In the histological examination, it was observed that the goose spleen was surrounded by capsule composed of connective tissue, similar to those of other species. It was further observed that the trabeculae formed by this capsule became increasingly thinner towards the inside of spleen (Figure 1). In the trabeculae, trabecular arteries and veins were seen side by side (Figure 2). When the areas of white and red pulp in the tissue of the spleen were distinguished from each other, the





**Figure 1.** Histological appearance of goose spleen. White pulp (wp), red pulp (rp), capsule (arrowheads) and trabeculae (arrows). Triple stain (Bar=200  $\mu$ m).

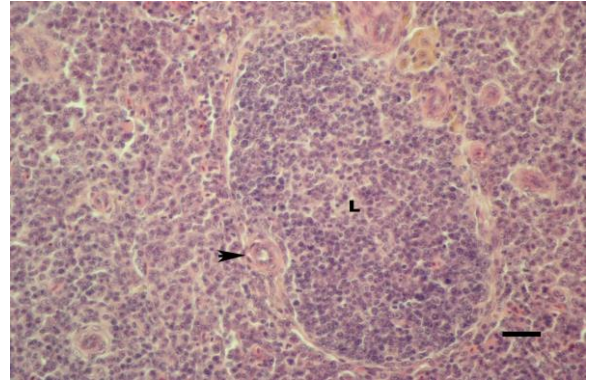
**Şekil 1.** Kaz dalağının histolojik görünümü. Beyaz pulpa (wp), kırmızı pulpa (rp), kapsül (okbaşıları) ve trabekül (oklar). Triple boyama (Bar=200  $\mu$ m).



**Figure 2.** Trabecular artery (arrowhead) and vein (arrow) are located within the trabeculae. Triple stain (Bar=100  $\mu$ m).

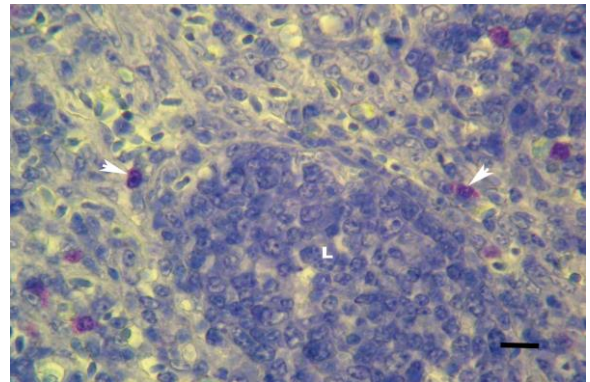
**Şekil 2.** Trabekül içinde arteriya (okbaşı) ve vena (ok) trabekülaris. Triple boyama (Bar=100  $\mu$ m).

lymph follicles were observed clearly in the white pulp (Figure 1). The central artery in the lymph follicles was generally observed to be located eccentrically in the white pulp areas (Figure 3). Mast cells were observed in the white pulp more than in the red pulp and were never observed in the lymph follicles (Figure 4). Histometric measurements revealed that the capsule surrounding the spleen had a thickness ranging from 18.1 to 28.4  $\mu$ m. Moreover, the average thickness of the capsule was measured as 22.47  $\mu$ m.



**Figure 3.** Central artery (arrowhead) and lymph follicle (L) in goose spleen. H&E (Bar=50  $\mu$ m).

**Şekil 3.** Kaz dalağında arteria sentralis (okbaşı) ve lenf folikülü (L). H&E (Bar=50  $\mu$ m).



**Figure 4.** Mast cell (arrowheads) and lymph follicle (L) in goose spleen. Toluidine blue (Bar=20  $\mu$ m).

**Şekil 4.** Kaz dalağında mast hücresi (okbaşıları) ve lenf folikülü (L). Toluidine blue (Bar=20  $\mu$ m).

The average number of lymph follicles was found to be 2.36 in 1.07 mm<sup>2</sup>. The width of the lymph follicles varied between 20.6 and 248.6  $\mu$ m (with an average of 113  $\mu$ m), while the length of lymph follicles varied between 25.8 and 310.8  $\mu$ m (with an average of 144.3  $\mu$ m). The ratio of lymph follicles' width to length (W/L) was determined as 0.79. The diameters of mast cells varied between 5.2 and 7.2  $\mu$ m (with an average of 5.97  $\mu$ m). On average, 1.35 mast cells were counted in 1.07 mm<sup>2</sup> (Table 1).

**Table 1:** Results of histometric measurement in geese spleen.

**Tablo 1:** Kaz dalağında histometrik ölçüm sonuçları.

	N	Min.	Max.	Mean ± SD
Thickness of capsule (µm)	6	18.06	28.38	22.47±2.60
Number of follicles (1.07 mm <sup>2</sup> )	6	1.00	8.00	2.36±1.34
Width of follicles (µm)	6	20.64	248.64	113.00±44.48
Length of follicles (µm)	6	25.80	310.80	144.33±56.67
Ratio of width/length of follicles (%)	6	0.48	1.00	0.79±0.10
Diameter of mast cells (µm)	6	5.17	7.24	5.97±0.66
Number of mast cells (1.07 mm <sup>2</sup> )	6	0	6	1.35±1.31

SD: Standard Deviation.

## DISCUSSION and CONCLUSION

Kozlu et al. (2011) reported that the capsule surrounding the spleen did not form trabeculae entering into the organ of ostriches or kestrels but it did so in ospreys. Bradley (1915) reported in fowls that the trabeculae entering into the spleen were composed of fibrous tissue. Tischendorf (1985) reported that while trabeculae were not seen in many species of poultry, they were found a small extent in geese. Fitzgerald (1969) reported that the spleen in quail had clear trabeculae. Liman and Bayram (2011) reported that the trabecular artery, trabecular vein and central artery were quite obvious in quails. In this study, trabeculae were observed quite clearly. It was concluded that the histologic structure of the goose spleen resembles that of mammals more closely than that of poultry. In some of previous studies (Thorbecke et al., 1957; Payne, 1971; Hodges, 1974; Jeurissen et al., 1988), it

has been stated that the boundary between the white and red pulps was not distinguishable in poultry. On the other hand, the boundary between the white and red areas was distinguishable in some others (Starck and Riclefs, 1998; Causey Whittow, 2000). In this study, the boundary between the white and red pulps was distinguishable in geese. Tishendorf (1985) reported that the thickness of capsule surrounding the spleen of duck (*Anas platyrhynchos domestica*) ranged from 23 to 40 µm. Biljana et al. (2008) reported that the average width of lymph follicles was 76 µm. However, in this study, it was found that the thickness of capsule was slightly thinner, and the average width of lymph follicles was longer. Karaca et al. (2006) reported that the mast cells were encountered within the lymph follicles. Balcan et al. (2009) reported that these cells were seen mainly in red pulp and that the number of mast cells increased during development. In our study, the cells were encountered within the lymph follicles and they were mainly found in the white pulp apart from the lymph follicles of the spleen. It has been reported that the diameter of mast cells was 30 µm in humans and ranged from 3.5 to 22 µm in rodents (Galli et al., 1984). Uslu and Yoruk (2013) reported that the number of mast cells in the lower respiratory tract and in the lung of goose (average 20 in mm<sup>2</sup>) was lower than that of duck (average 30 in mm<sup>2</sup>). Herein, the average diameter of these cells was 5.97 µm and the average number of mast cells was 1.35 in 1.07 mm<sup>2</sup> in the spleen. We could not find any data in the literature about the diameter of mast cells of poultry so no comparison could be made among poultry species.

In conclusion, although the histological structure of goose spleen was very similar to that of other animals in several respects, some specific properties of goose spleen (related with the histological structure, histometric values and the distribution of mast cells) were also observed in the present study. Hence, it was considered that the

data presented herein might make a useful contribution to the literature.

## REFERENCES

- Alabay B., 2008. Lymphoid system. In "Veteriner Özel Histoloji", Ed., A Ozer, 49-66, Nobel Press, Ankara.
- Asti RN., Tanyolac A., Kurtdede N., Ozen A., 1997. Distribution of T and B lymphocytes in Angora Goat tissues. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 21, 99-105.
- Balcan E., Arslan O., Gumus A., Sahin M., 2009. The effect of tunicamycin on embryonic and newborn murine spleen tissues. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, 15, 651-660.
- Biljana M., Ana R., Ruzica A., Ljiljana D., Mileva M., 2008. Changes in lymphatic organs of layer chickens following vaccination against marek's disease: histological and stereological analysis. Acta Veterinaria (Beograd), 58, 3-16.
- Bradley OC., 1915. The structure of the fowl. 79-88. A & C. Black, LTD. London.
- Caughey G.H., 2011. Mast cell proteases as protective and inflammatory mediators. Advances in Experimental Medicine and Biology, 716, 212-234.
- Causey Whittow G., 2000. Strukie's Avian Physiology, 5<sup>th</sup> ed., 659-661. Academic Press. London.
- Fitzgerald TC., 1969. The Coturnix Quail. Anatomy and Histology. 237-238. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Galli SJ., Dvorak AM., Dvorak HF., 1984. Basophils and mast cells: morphologic insights into their biology, secretory patterns, and function. Progress in Allergy, 34, 1-141.
- Hodges RD., 1974. The Histology of the Fowl. 221-225. Academic Press. London.
- Jamur MC., Grodzki ACG., Berenstein EH., Hamawy MM., Siraganian RP., Oliver C., 2005. Identification and characterization of undifferentiated mast cells in mouse bone marrow. Blood, 105, 4282-4289.
- Jeurissen SHM., Janse EM., Ekino S., Nieuwenhuis P., Koch G., De Boer GF., 1988. Monoclonal antibodies as probes for defining cellular subsets in the bone marrow, thymus, bursa of fabricius, and spleen of the chicken. Veterinary Immunology and Immunopathology, 19, 225-238.
- Karaca T., Yoruk M., Uslu S., 2006. Age-Related distribution and heterogeneity in the number of mast cells lymphoid of the organs in turkey. The Journal of the University of Yuzuncu Yil, Faculty of Veterinary Medicine, 17, 5-8.
- Kozlu T., Karadag Sari E., Akaydin Bozkurt Y., Altunay H., 2011. A comparative study on the histological structure of the spleen in the ostrich (*Struthio camelus*), the kestrel (*Falco tinnuculus*), and the osprey (*Pandion haliaetus*). Acta Biologica Hungarica, 62, 113-121.
- Kroese FGM., Wubbena KC., Kuijpers KC., Nieuwenhuis P., 1987. The ontogeny of germinal centre forming capacity of neonatal rat spleen. Immunology, 60, 597-602.
- Liman N., Bayram GK., 2011. Structure of the quail (*coturnix coturnix japonica*) spleen during pre- and post-hatching periods. Revue de Medecine Veterinaire, 162, 25-33.
- Luna LG., 1968. Manual of Histologic Staining Methods of Armed Forces Institute of Pathology, 3<sup>rd</sup> ed., 32-46. Mc Graw-Hill Book Comp., London.
- Payne LN., 1971. The Lymphoid System. In "Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl", Ed., Bell DJJ., Freeman BM., 985-1037. Academic Press. London.
- Ross MH., Pawlina W., 2011. Histology: A Text and Atlas, 6<sup>th</sup> ed., 471-474. Lippincott Williams and Wilkins. Baltimore, Philadelphia.
- Starck JM., Riclefs RE., 1998. Avian growth and development: Evolution within the altricial-precocial. 205-208. Oxford University Press. New York.
- Straus AH., Nader HB., Dietrich CP., 1982. Absence of heparin or heparin-like compounds in mast-cell-free tissues and animals. Biochimica

- Biophysica Acta, 717, 478-485.
- Thangapandiyan M., Balachandran C., 2010. Cytological evaluation of canine lymphadenopathies- a review of 109 cases. Veterinarski Arhiv, 80, 499-508.
- Thorbecke GJ., Gordon HA., Wostman B., Wagner M., Reyniers JA., 1957. Lymphoid tissue and serum gamma globulin in young germfree chickens. The Journal of Infectious Diseases, 101, 237-251.
- Tischendorf F., 1985. On the evolution of the spleen. Experientia, 41, 145-152.
- Uslu S., Yoruk M., 2013. Morphological and histometric studies on mast cell distribution and heterogeneity, present in the lower respiratory tract and in the lung of local duck (*Anas platyrhynchos*) and goose (*Anser anser*). Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, 19, 475-482.



## Farklı Kuru Madde Düzeyi Esasına Göre Hazırlanan Şeker Pancarı Posası Silajlarının, Silaj Kalitelerinin ve Rumen Yıkılabilirliklerinin Tespit Edilmesi

Mehmet Akif YÖRÜK<sup>1✉</sup>, Taylan AKSU<sup>2</sup>, Mehmet GÜL<sup>1</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.

**Özet:** Bu çalışmada, buğday samanı, yonca samanı ve fiğ karıştırılarak kuru madde (KM) düzeyleri %20, %25 ve %30'a çıkarılan şeker pancarı posası silajlarının bazı silaj kalite kriterleri ve rumende KM yıkılabilirlikleri incelendi. Bu amaçla, karışımlar %2 melas içerecek şekilde 1 kg'lık cam kavanozlarda iki ay süre ile silolandı. İnkubasyon sonrasında silajlarda fiziksel ve kimyasal analizler yapıldı. Şeker pancarı posası silajlarının kalite sınıfları "iyi-pekiyi" olarak değerlendirildi. Silajların pH, laktik asit, asetik asit ve bütirik asit değerleri sırasıyla 3.94-4.48 aralığında, % 2.22-5.39, % 0.94-4.97 ve % 0.35-1.24 olarak tespit edilmiştir. Silaj örneklerinin 4, 8, 16, 24, 48 ve 72 saatlik rumen KM yıkılabilirlikleri naylon kese yöntemi ile tespit edildi. %20-30 kuru madde içeren tüm silaj örneklerinde, 72. saat rumen KM yıkılımları %93.81-98.63 aralığında belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** Rumen kuru madde yıkılabilirliği, Silaj kalitesi, Şeker pancarı posası silajı.

## Determination of Silage Quality and Rumenal Dry Matter Degradability of Sugar Beet Pulp Silages Ensilaged on The Basis of Different Dry Matter Levels

**Abstract:** In the present study, some silage quality parameters and rumen dry matter (DM) degradabilities of sugar beet pulp silages with increased DM levels to 20, 25, and 30% by mixing with wheat straw, alfalfa hay and vetch were investigated. For this purpose, the silage mixtures containing 2% molasses were kept in 1 kg of glass jars for two months. Physical and chemical analyses were performed in silage samples following the incubation. The quality classes of sugar beet pulp silage were considered as "good-perfect". The pH, lactic acid, acetic acid and butyric acid values of silages were determined as being in the range of 3.94-4.48, 2.2-5.39 %, 0.94-4.97 %, and 0.35-1.24 %, respectively. DM degradabilities of silage samples at the 4, 8, 16, 24, 48 and 72 h in rumen were determined by using nylon bag technique. In all the silage samples having 20-30 % dry matter, the rumen DM degradabilities at the 72<sup>th</sup> h were determined as being in the range of 93.81-98.63 %.

**Key words:** Rumenal dry matter degradability, Silage quality, Sugar beet pulp silage.

## GİRİŞ

Türkiye’de üretilen şeker pancarı posasının çok büyük bir bölümü şeker fabrikalarına yakın yerlerde taze olarak hayvanlara yedirilmektedir. Ancak şeker pancarı posasının üretim süresinin kısıllığı, ucuz ve enerji yönünden zengin bu yem maddesinden yararlanma süresini oldukça kısaltmaktadır. Ayrıca şeker pancarı posasının hiçbir işleme tabi tutulmaksızın yığın halinde depolanması da istenmeyen fermantasyon olayları sonucu bu yem maddesinin içerdiği besin maddelerinin bir kısmının (%40-60) kaybına neden olmaktadır (Kılıç, 1986). Depolama sırasında meydana gelen bu kayıpların önlenmesi, şeker pancarı posasından daha uzun süre yararlanılması ve silaj kalitesinin artırılması amacıyla bu yem maddesinin silolanmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Şahin ve ark., 1999; Deniz ve ark., 2001; Levendoğlu ve Karlı 2010).

Ruminantlar için yüksek enerjili (2.73 Mcal/kg KM) bir yem maddesi olan yaş şeker pancarı posasının içerdiği selülozun sindirilme derecesi yüksek olup çok düşük düzeyde lignin içermektedir (INRA, 1988; Des Wisser ve Hindle 1990; Leterme ve ark., 1992). Yaş halde %12-15 düzeyinde kuru madde içeren şeker pancarı posasının kuru maddesinde %20 oranında ham selüloz (Haaksma, 1982) ve %8-10 ham protein bulunur (Çoşkun ve ark., 1998). Ham proteinin yıkılabilirliği oldukça düşüktür (Haaksma, 1982). Posanın bu eksikliğini gidermek amacıyla proteince zengin yemlerle desteklenmesi gerekir (Close ve Menke 1986).

Yaş şeker pancarı posası kuru maddede %5-10 kolay fermente olabilen şeker içerir (Haaksma, 1982). Şeker pancarı posasının tamponlama kapasitesinin düşük olması (Arnould ve ark., 1982) sayesinde silolamada uçucu yağ asitleri ve laktik asit oluşumu yeterince gerçekleşmekte ve ortam pH’sı kısa sürede düşerek bütirik asit fermantasyonunun oluşumu ve proteinlerin parçalanması önlenmektedir (Leterme ve ark., 1992).

Şeker pancarı posasının fiziksel yapısının zayıf olması silaj kalitesinin düşmesine yol açarak,

yedirildiği hayvanlarda ruminasyon ile ilgili problemlere neden olmaktadır. Bu olumsuzlukları ortadan kaldırmak için posaya kaba yem maddelerinin katılması önerilmektedir (Leterme ve ark., 1992).

Şeker pancarından şeker üretimi sırasında elde edilen melas ve posa gibi yan ürünler yıllardır hayvanların beslenmesinde kullanılmaktadır. Bunlar belirli bir oranda karıştırılıp kurutulduğu zaman melasın laksatif etkisi posanın peklilik yapıcı yöndeki etkisi ile artış göstermekte ve hayvanlar tarafından istekle yenen, saklanması kolay bir yem maddesi haline gelmektedir.

Yüksek miktarda şeker içeriği nedeniyle enerji yönünden zengin ucuz bir kaba yem kaynağı olan şeker pancarı posasının silaj yapılmak suretiyle başta süt inekleri olmak üzere ruminantlarda başarıyla kullanılmakta yem ve üretim maliyetlerinin düşürülmesi mümkün olmaktadır (Deniz ve ark., 2002; Öztürk ve ark., 2011).

Bu çalışmanın amacı ruminantlar için enerjice zengin ve ucuz bir yem maddesi olan şeker pancarı posasının değişik katkılarla, farklı kuru madde düzeylerinde silajlarının yapılması ve rumen yıkılabilirliklerinin tespiti edilmesi ile kaliteli şeker pancarı posası silajı elde etme imkânlarını araştırmaktır.

## MATERYAL ve METOT

Araştırmada kullanılan yaş şeker pancarı posası (YŞPP) ile melas Erzurum Şeker Fabrikasından; buğday samanı, yonca samanı ve fiğ kuru otu ise yine Erzurum piyasasından temin edildi. Hayvan materyali olarak 2 yaşlı 4 baş Morkaraman koç kullanıldı. Silajların rumen kuru madde ve ham protein yıkılabilirliklerinin belirlenmesinde ise 7x12 ebadında 40 mikron gözenek ölçülü naylon keseler kullanıldı.

Bu çalışmada Yerel Etik Kurulu ilkelerine uyulmuştur. Araştırmada, kombinasyonları Tablo 1’de verilen, kuru madde düzeyleri sırasıyla %20, %25, %30 olacak şekilde 4 tekerrürden oluşturulan

%2 melas ilaveli karışımlar 1'er kg'lık cam kavanozlara iyice sıkıştırılarak silolandı. Kavanozların ağızları hava almayacak şekilde kapatıldı. Silajlar iki ay süre ile fermantasyona bırakıldı. İki aylık fermantasyon sonunda kavanozlar açılarak, elde edilen yaş şeker pancarı posası silajlarının (YŞPPS) yem niteliğini ve silaj yem kalite sınıflarını belirlemek amacıyla fiziksel gözlemler ve kimyasal analizler yapıldı.

#### Fiziksel Gözlemler

İki ayın sonunda kavanozlar açılarak alınan örneklerin fiziksel muayeneleri yapılmış subjektif değerlendirmelere göre puantajları; renk (14), strüktür (4) ve koku (2) üzerinden silaj değerlendirme anahtarı (DLG) yardımıyla yapılmıştır (Alçıçek ve Özkan, 1997). Daha sonra laboratuvarında elde edilen kuru madde ve pH değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla Fleig puanları tespit edilmiştir (Kılıç, 1986).

Fleig Puanı = [220 +( 2 x silaj kuru maddesi (%)-15)] - 40 x silajın pH değeri

#### Analitik İşlemler

Silaj örneklerinin pH değerleridijital pH metre ile ölçüldü. Kuru madde (KM) düzeyi A.O.A.C (1990)'a göre 48 saat 60 °C sıcaklıktaki kurutma fırını ile, ham protein (HP) analizleri Akyıldız (1984)'in bildirdiği Kjeldahl yöntemi ile Asit Deterjan Lif (ADF) ve Nötral Deterjan Lif (NDF) analizleri ise Van Soest ve ark., (1991)'na göre ANKOM Fiber Analyzer cihazı ile yapıldı. Silajlarda uçucu yağ asitleri Leventini ve ark., (1990)'nın bildirdikleri yöntemle göre gaz kromatografide, laktik asit düzeyleri ise Petit ve Flipot (1992)'un bildirdiği yöntemle göre Sigma kitleriyle spektrofotometrede belirlendi.

#### Rumen Kuru Madde Yıkılabilirliğinin Tespiti

Silaj örneklerinin rumen kuru madde yıkılabilirliklerinin tespitinde, rumen kanülleri, Atasoy ve Taş (2003)'ün bildirdiği şekilde yerleştirilmiş toklular kullanıldı. Erkek toklular deneme süresince kuru madde ihtiyaçları düzeyinde

(NRC, 1985) kurutulmuş yonca ile beslendi. Ayrıca hayvanların önünde sürekli temiz ve taze su bulunduruldu.

**Tablo 1.** Şeker Pancarı Posası Silajlarının kombinasyonları, %.

**Table 1.** Combinations of sugar beet pulp silages, %.

1- Kontrol	YŞPP + %2 Melas
2- %20 KM	YŞPP + Buğday Samanı + %2 Melas
3- %25 KM	YŞPP+Buğday Samanı + %2 Melas
4- %30 KM	YŞPP+Buğday Samanı + %2 Melas
5- %20 KM	YŞPP + Yonca Samanı + %2 Melas
6- %25 KM	YŞPP + Yonca Samanı + %2 Melas
7- %30 KM	YŞPP+Yonca Samanı + %2 Melas
8- %20 KM	YŞPP+Fiğ Kırması + %2 Melas
9- %25 KM	YŞPP+Fiğ Kırması + %2 Melas
10- %30 KM	YŞPP + Fiğ Kırması + %2 Melas

#### Naylon kese tekniğinin uygulanması

Naylon kese denemesi, Orskow ve ark. (1980)'nın bildirdiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, naylon keseler her kullanım periyodunu takiben mini çamaşır makinesinde yıkanıp kurutma dolabında 80° C'de 24 saat süreyle kurutuldu. Desikatörde soğutulduktan sonra daraları alınan keselere yaklaşık 6 g örnek tartılarak ağızları bağlandı. Denemede kullanılan bütün örnekler, her kavanoz için ayrı ayrı olmak üzere, 4 tokluda 4, 8, 16, 24, 48 ve 72 saatlik sürelerde inkubasyonlara alındı. İşlemler her bir hayvanda 2'şer tekrar halinde uygulandı. İnkubasyon sürelerinin sonunda rumenden alınan keseler, önce üzerlerindeki kaba bulaşıkların uzaklaştırılması için çeşme suyu altında yıkandıktan sonra, yukarıda açıklanan yıkama ve kurutma işlemlerine tabi tutuldu. Desikatörde

soğutulan keseler tartılarak ağırlıkları belirlendi. Daha sonra her örneğin 4, 8, 16, 24, 48 ve 72 saatlik inkubasyon sürelerindeki rumen KM yıkılım düzeyleri hesaplandı.

### İstatistiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizinde tek yönlü varyans analizi, gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan testi kullanıldı (Düzgüneş ve ark., 1983).

### BULGULAR

Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri Tablo 2’de, silajlarının besin madde içerikleri Tablo 3’te, silajlarının fiziksel özelliklerine göre puanlanması ve kalite sınıflandırması Tablo 4’te, silajlarının Fleig puanına göre kalite sınıfları Tablo 5’te, silajlarının organik asit miktarları Tablo 6’da ve silajlarının rumen kuru madde yıkılabilirlikleri ise Tablo 7’de sunulmuştur.

**Tablo 2.** Yem maddelerinin ham besin madde içerikleri, %.

**Table 2.** Nutrient contents of feed materials, %.

Yem Maddeleri	KM	OM	HP	HY	HS	HK
YŞPP	14.89	14.48	1.79	0,36	2.74	0.41
Buğday samanı	91.51	84.71	3.77	3.04	38.50	6.80
Yonca kuru otu	93.21	85.00	12.87	2.68	32.07	8.21
Fiğ kırması	92,37	88.46	27.91	1.17	6.04	5.91
Melas	78.17	68.83	10.91	-	-	9.34

**Tablo 3.** Yaş şeker pancarı posası silajlarının ham besin madde içerikleri, %.

**Table 3.** Nutrients contents of sugar beet pulp silages, %.

Gruplar		KM	KM	HP*	HK	NDF	ADF	OM
Kontrol		15.40	97.30	1.79	5.37	47.06	23.58	91.93
Buğday samanı	20	19.67	96.51	1.97	6.36	34.55	28.03	90.14
	25	23.57	96.30	2.07	6.60	35.62	29.51	89.70
	30	27.11	97.19	2.38	7.16	40.13	32.33	90.03
Yonca Kuru Otu	20	18.62	97.38	3.17	7.39	54.85	39.22	89.99
	25	23.13	97.41	3.59	8.32	62.82	44.57	89.09
	30	29.49	97.71	4.47	8.67	65.48	48.25	89.04
Fiğ kırması	20	19.77	96.91	3.38	6.06	41.21	23.63	90.85
	25	23.97	97.26	5.14	6.13	40.18	22.74	91.12
	30	29.47	96.72	7.06	6.26	37.90	19.46	90.46

\* : Ham protein analizleri yaş numunelerde diğer analizler havada kuru numunelerde yapılmıştır.



**Tablo 4.** Fiziksel özelliklerine göre silajların puanlaması ve kalite sınıfları.**Table 4.** Ratings and quality classes of silages based on physical properties.

Gruplar	Koku	Puan (0-14)	Strüktür	Puan (0-4)	Renk	Puan (0-2)	Toplam Puan	Kalite Sınıfı (0-20)
Kontrol	Az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku ve hafif kızışma	10	Posanın yapısı biraz bozulmuş	2	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	14	İyi
Buğday samanı	20 Hafif ekşimsi meyvemsi aromatik koku	12	Posanın yapısı çok az bozulmuş	3	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	17	İyi
	25 Hafif ekşimsi meyvemsi aromatik koku	13	Posanın yapısı bozulmamış	4	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	19	Pekiyi
	30 Kuvvetli ekşi koku,	11	Posanın yapısı bozulmamış	4	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	17	İyi
Yonca Kuru Otu	20 Az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku	10	Posanın yapısı bozulmamış	4	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	16	İyi
	25 Kuvvetli ekşi Az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku ve hafif kızışma	9	Posanın yapısı çok az bozulmuş	3	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	14	İyi
	30 Az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku	10	Posanın yapısı bozulmamış	4	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	16	İyi
Fiğ kırmaması	20 Az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku	10	Posanın yapısı bozulmamış	4	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	16	İyi
	25 Az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku	10	Posanın yapısı bozulmamış	4	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	16	İyi
	30 Az miktarda tereyağı asidi, kuvvetli ekşi koku ve orta düzeyde kızışma	7	Posanın yapısı bozulmamış	4	Silolandığı andaki rengini koruyor	2	13	Orta

**Tablo 5.** Silajların Fleig Puanına göre kalite sınıfları.**Table 5.** Quality classes of silages based on Fleig Score.

Gruplar	KM	pH	Fleig puanı	Kalite Sınıfı
Kontrol	15.40	3.94 <sup>e</sup>	78.27	İyi
Buğday samanı	20	4.01 <sup>de</sup>	82.10	Pekiyi
	25	4.22 <sup>cd</sup>	83.13	Pekiyi
	30	4.36 <sup>abc</sup>	84.87	Pekiyi
Yonca Kuru Otu	20	4.09 <sup>de</sup>	78.27	İyi
	25	4.12 <sup>de</sup>	86.53	Pekiyi
	30	4.43 <sup>ab</sup>	86.79	Pekiyi
Fiğ kırmacı	20	4.07 <sup>de</sup>	81.98	Pekiyi
	25	4.23 <sup>bcd</sup>	83.64	Pekiyi
	30	4.48 <sup>a</sup>	84.91	Pekiyi
SEM		0.07	2.94	
P		0.001	0.440	

<sup>a-e</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.01).

**Tablo 6.** Silajlarının organik asit miktarları (% KM).**Table 6.** Organic acid levels of silages (DM %).

Gruplar	Laktik Asit	Asetik Asit	Propiyonik Asit	Bütirik asit	
Kontrol	4.01 <sup>c</sup>	1.68 <sup>d</sup>	0.55 <sup>cd</sup>	ND	
Buğday Samanı	20	3.11 <sup>e</sup>	3.32 <sup>c</sup>	0.73 <sup>b</sup>	ND
	25	3.29 <sup>e</sup>	1.22 <sup>e</sup>	0.38 <sup>ef</sup>	ND
	30	4.22 <sup>c</sup>	1.81 <sup>d</sup>	0.52 <sup>cde</sup>	ND
Yonca kuru otu	20	2.22 <sup>e</sup>	0.94 <sup>e</sup>	0.43 <sup>def</sup>	ND
	25	4.12 <sup>c</sup>	4.36 <sup>b</sup>	0.36 <sup>f</sup>	ND
	30	7.23 <sup>a</sup>	4.97 <sup>a</sup>	1.24 <sup>a</sup>	ND
Fiğ kırmacı	20	4.04 <sup>c</sup>	1.93 <sup>d</sup>	0.56 <sup>cd</sup>	ND
	25	3.66 <sup>d</sup>	4.24 <sup>b</sup>	0.65 <sup>bc</sup>	ND
	30	5.39 <sup>b</sup>	4.21 <sup>b</sup>	0.35 <sup>f</sup>	ND
SEM	0,11	0,10	0,05	-	
P	0,001	0,001	0,001	-	

<sup>a-f</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05). ND: Tespit edilemedi.

**Tablo 7.** Silajlarının rumen kuru madde yıkılabilirlikleri, %.**Table 7.** Ruminal dry matter degradabilities of silages, %.

Gruplar	0. Saat	4.Saat	8.Saat	16.Saat	24.Saat	48.Saat	72.Saat
Kontrol	91.57 <sup>bc</sup>	94.17 <sup>bc</sup>	95.00 <sup>abc</sup>	98.67 <sup>a</sup>	99.11 <sup>a</sup>	99.56 <sup>a</sup>	99.30 <sup>a</sup>
Buğday samanı	20	94.85 <sup>a</sup>	92.65 <sup>e</sup>	93.16 <sup>cd</sup>	96.05 <sup>cd</sup>	96.62 <sup>d</sup>	97.17 <sup>c</sup>
	25	86.78 <sup>f</sup>	88.63 <sup>g</sup>	88.68 <sup>e</sup>	91.93 <sup>e</sup>	91.29 <sup>f</sup>	93.51 <sup>h</sup>
	30	79.37 <sup>g</sup>	83.18 <sup>h</sup>	83.47 <sup>f</sup>	86.71 <sup>f</sup>	87.96 <sup>g</sup>	91.76 <sup>i</sup>
Yonca Kuru Otu	20	94.08 <sup>a</sup>	95.19 <sup>a</sup>	95.42 <sup>ab</sup>	97.79 <sup>ab</sup>	97.86 <sup>bc</sup>	98.32 <sup>cd</sup>
	25	90.32 <sup>cd</sup>	93.59 <sup>cd</sup>	94.46 <sup>bc</sup>	95.25 <sup>d</sup>	96.69 <sup>d</sup>	97.39 <sup>ef</sup>
	30	89.05 <sup>de</sup>	89.96 <sup>f</sup>	91.58 <sup>d</sup>	91.99 <sup>e</sup>	94.56 <sup>e</sup>	95.47 <sup>g</sup>
Fiğ kırmacı	20	92.77 <sup>ab</sup>	94.80 <sup>ab</sup>	96.90 <sup>a</sup>	96.89 <sup>bc</sup>	98.75 <sup>ab</sup>	98.97 <sup>b</sup>
	25	91.06 <sup>c</sup>	93.62 <sup>cd</sup>	95.10 <sup>abc</sup>	95.12 <sup>d</sup>	97.85 <sup>bc</sup>	98.72 <sup>bc</sup>
	30	88.30 <sup>ef</sup>	93.05 <sup>de</sup>	93.78 <sup>bc</sup>	95.84 <sup>cd</sup>	97.56 <sup>cd</sup>	97.92 <sup>de</sup>
SEM	0.56	0.29	0.64	0.48	0.36	0.20	0.29
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

<sup>a-i</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.01).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaş posa yüksek düzeyde su içermesi ve kolay eriyebilir besin maddelerin yıkanması nedeniyle iyi bir silo yemi olarak değerlendirilememektedir (Courtin ve Spoelstra, 1989). Buğday samanı, yonca kuru otu ve fiğ kırmayı ile farklı kuru madde düzeylerinde hazırlanan yaş şeker pancarı posası silajlarının silaj kalitesini ve rumen kuru madde yıkılabilirliklerini belirleyerek şeker pancarı posasının ruminant beslenmesinde daha verimli kullanılmasını sağlayacak silolama yöntemlerini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmada, silaj örneklerinin renk, koku ve stürüktür açısından olumsuz bir özellik taşımadığı, küflenme ve benzeri bozulmaların hemen hiç oluşmadığı gözlenmiştir (Tablo 4). Silajlar fiziksel özelliklerine göre genel olarak "iyi" puanını almışlardır. Buğday samanı ilave edilen %25KM içeriğine sahip YŞPP silajının kalite sınıfı ise "pekiyi" olarak belirlenmiştir. Silajların Fleig puanına göre kalite sınıfları ise genel anlamda "pekiyi" sınıfında yer almıştır. Bu kalite sınıflandırmasında da buğday samanı ilave edilen grubun bütün KM seviyelerinde kalite sınıfının "pekiyi" olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde fiğ kırmayı ilave edilen YŞPP silajının tüm KM seviyelerinde kalite sınıfının "pekiyi" olduğu belirlenmiştir. YŞPP silajlarının besin madde içerikleri incelendiğinde (Tablo 3) yonca kuru otu ve fiğ kırmayı ilave edilen YŞPP silajlarının ham protein miktarlarının artan ilave düzeylerine bağlı olarak arttığı görülmüştür. Ham protein düzeyindeki artışlar fiğ kırmayı bulunan gruplarda daha fazla ve karışımdaki fiğ kırmayı miktarı ile doğru orantılı olmuştur. Ham kül değerleri gruplarda benzer bulunmuştur. NDF ve ADF değerlerinin yonca kuru otu içeren gruplarda diğer gruplardan belirgin bir şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir.

YŞPP silajlarının pH değerleri incelendiğinde (Tablo 5), muamele grupları arasında önemli farklılıklar olduğu ( $P<0.05$ ) ve silaj pH değerlerinin 3.94-4.48 aralığında seyrettiği belirlenmiştir. En düşük pH kontrol grubunda (3.94); en yüksek pH ise %30 KM'ye sahip fiğ kırmayı ilave edilen grupta (4.48) olmuştur. YŞPP silajlarının pH değerlerinin

ideal silaj pH aralığına (3.8-4.2) yakın olması, tüm gruplara ilave edilen melastan kaynaklanmıştır (Leterme ve ark., 1992). Nitekim YŞPP silolanma esnasında kolay eriyebilir karbonhidrat katkısına ihtiyaç duymaktadır (Leterme ve ark., 1992). Gruplarda artan katkı oranlarına bağlı olarak YŞPP silajlarının pH değerindeki yükselme eğilimi katkıların protein oranlarına ve silajdaki proteolizisin pH üzerindeki baskılayıcı etkisine atfedilebilir (Leterme ve ark., 1992).

YŞPP silajlarının organik asit miktarları incelendiğinde (Tablo 6), fermantasyonun ağırlıklı olarak laktik asit yönünde gerçekleştiği (2.22-7.23, %KM), bunu asetik asitin izlediği (0.94-4.97, %KM), propiyonik asit oluşumunun ise oldukça düşük olduğu (0.38-1.24, %KM) tespit edilmiştir. Silaj örneklerinde bütirik asitin ölçülebilir düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Organik asit miktarlarındaki bu nispi oranlama ideal bir silaj fermantasyonunun işaretidir. Melas katkısı ile fermantasyonu iyileştirilen silajlarda pH aralığının da ideal sınırlarda olması bu yorumu destekler niteliklerdir. Nitekim, Leterme ve ark., (1992) şeker pancarı posası silajında fermantasyonun laktik asit ağırlık oluştuğunu asetik asidin daha az şekillendiği ifade ederken Mossakowska (1990)'da % 23-24 KM içeren yaş şeker pancarı posasına %2 melas ilave ederek hazırladığı silajlarda, laktik asit düzeyinin %1.18-1.35 arasında değiştiğini tespit etmiştir. Diğer taraftan, Karalozos ve Giouzeljannis (1988) ise, asetik asitin en yüksek oranda oluştuğunu ve bunu laktik asidin izlediğini, bütirik asit oranının ise çok düşük düzeyde kaldığını bildirmişlerdir. YŞPP silajının kalitesine etki eden iki temel unsur vardır. Bunlardan biri YŞPP'nin kuru madde düzeyi diğeri ise kolay eriyebilir karbonhidrat miktarıdır. Kuru madde düzeyi yükseltilmeden yapılan ve fermantasyon kalitesi "iyi" olarak değerlendirilen kimi çalışmalarda (Leterme ve ark., 1992; Nout ve ark., 1993), kullanılan YŞPP'nin kuru maddesinin %20'nin üzerinde olduğu görülmektedir. Bu posalar üretim aşamasında ikinci defa sıkıştırılan ve böylelikle su oranı daha da azaltılan posalardır (pressed sugar

beep pulp) (Vandergeten ve Vanstallen, 1989). Dolayısı ile kuru madde düzeyi düşük (< %15KM) üretimlerin silolanmasının zor olduğu yapılan bir çok çalışma ile ortaya konulmuştur (Giardini ve ark., 1982; Kampues ve ark., 1983; Giardini ve ark., 1984).

Yemlerin rumen kuru madde yıkılabilirlikleri, yemlerin organik maddelerinin sindirilme dereceleri ile doğrudan ilişkilidir. Dolayısı ile sindirilme derecesi yüksek olan YŞPP'nin katkılı silajlarının sindirilme derecesini kullanılan katkıların organik maddelerinin sindirilme dereceleri doğrudan etkiler. Bu bağlamda YŞPP silajının rumen kuru madde yıkılabilirliklerinin verildiği Tablo 7 incelendiğinde, buğday samanlı gruplarda kuru madde yıkılabilirliğinin artan kuru madde düzeyleri ile ters orantılı olarak önemli derecede ( $P<0.05$ ) azaldığı görülmektedir. Diğer katkılı gruplarda ise 72. saat inkubasyon değerleri, özellikle %20-25 KM içeren örneklerde %98.63'lere varan düzeydedir. Bu veriler katkıların OM sindirilme derecelerine bağlı olarak yıkımlanmış olması, yaş şeker pancarı posasının mevcut katkılarla yüksek düzeyde değerlendirilebildiğinin önemli bir göstergesi olarak ele alınabilir. Yonca kuru otu gruplarından %20 KM düzeyinde 0 ve 4. saat kuru madde yıkılabilirliğinin kontrol grubundan yüksek ve 8 - 16. saatlerde kontrol grubu ile benzer 24, 48 ve 72 saatlerde ise önemli derecede düşük ( $P<0.05$ ) olduğu; benzer şekilde %20 fiğ kırmacı grubunda da 0 ve 4. saat kuru madde yıkılabilirliği kontrol grubundan yüksek, 8 ve 24. saatlerde benzer, 16, 48 ve 72. saatlerde düşük bulunmuştur. Literatür verileri de buğday samanının şeker pancar posasından daha düşük düzeyde değerlendirilebildiği yönündedir. Ergül (1988), buğday samanında ham selülozun sindirilebilirliğini %54.7, Coşkun ve ark. (1992), %58.83, Wanapat ve ark. (1985) ise %50.60 olarak bildirirken, Cottyn ve ark. (1980), şeker pancarı posasında ham selülozun sindirilebilirliğinin %88-92 arasında olduğunu ileri sürmektedirler.

Sonuç olarak, ülkemizde üretilen ve taze olarak tüketilen yaş şeker pancarı posasının buğday samanı, yonca kuru otu ve fiğ kırmacı ile kuru madde

düzeyinin yükseltilmesi ve melasla desteklenmesi durumunda, kolaylıkla silolanabileceği; yonca kuru otu ve fiğ kırmacı ile kaliteyi düşürmeden silajın protein yönünden zenginleştirebileceği sonucuna varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

- A.O.A.C. 1990. Official methods of analysis 15<sup>th</sup>Ed. Association of official analytical chemists, inc., Virginia, USA.
- Akyıldız AR., 1984. Yemler bilgisi laboratuvar kılavuzu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 895, Ders Kitabı: 213, s. 236, Ankara.
- Alçiçek A., Özkan K., 1997. Silo yemlerinde fiziksel ve kimyasal yöntemlerle silaj kalitesinin saptanması. Türkiye I. Silaj Kongresi, s. 241-247, Bursa.
- Arnould R., Deswysen A., Lamber J., 1982. Conservation et utilisation des ensilages. Seminaire de perfectonnement en zootechnie. UCL, Louvain-La-Neuve, 15 January-12 April.
- Atasoy N., Taş A., 2003. Considerations for gastrointestinal cannulation (rumen, duodenum and ileum) in sheep with a ruminal, a simple t-type and a modified t-type cannula. Dtsch Tierärztl Wochenschr, 110, 269-308.
- Close WH., Menke KH., 1986. Selected topics in animal nutrition. F.U.T. M.Illhader, Forststr. 18, 7024 Fielderstadt.
- Coşkun B., Deniz S., Ayar A., Kadak R., Deligüzeloğlu F., 1992. Amonyak ile muamele edilen buğday samanının sindirilme derecelerinin tespiti ve sığır besisinde kullanıma imkanları. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 8, 69-72.
- Coşkun B., Şeker H., İnal F., 1998. Yemler ve teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Yayın Ünitesi, Konya.
- Cottyn B., Boucque C., Aerts J., Fiems L., Buysse F., 1980. La valeur alimentaire des pulpes surpressées ensilées. Revue de l'Agriculture (Brussels), 33, 953-970.

- Courtin M., Spoelstra SF., 1989. Counteracting structure loss in pressed sugar beet pulp silage. *Animal Feed Science and Technology*, 24, 97-109.
- Deniz S., Demirel M, Tuncer ŞD., Kaplan O., Aksu T., 2001. Değişik şekillerde üretilen şeker pancarı posası silajının süt ineği ve kuzu rasyonlarında kullanıma olanakları, 1.kaliteli şeker pancarı posası silajının elde edilmesi. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 25, 1015-1020.
- Deniz S., Denek N., Nursoy H., Oğuz MN., 2002. Değişik şekillerde üretilen şeker pancarı posası silajının süt ineği ve kuzu rasyonlarında kullanıma olanakları, 3. sindirilebilirlik ve kuzu besisi denemeleri. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 26, 771-777.
- Des Wisser H., Hindle V., 1990. Dried beet pulp and maize silage as substitutes for concentrates in dairy cows rations. 1. Feed value, feed intake, milk production and milk composition. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 38, 77-88.
- Düzgüneş O., Kesici T., Gürbüz F., 1983. İstatistik Metotları I, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 861. Ankara.
- Ergül M., 1988. Yemler Bilgisi ve Teknolojisi. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Giardini A., Castellari A., Gaspari F., Vecchietti M., 1982. Ensilage technique of pressed pulp in big silos. *Proceeding of the 45<sup>th</sup> Winter Congress of IIRB*, Bruxelles.
- Giardini A., Gaspari F., Vecchietti M., 1984. Beet pressed pulp treated with sugar-beet molasses concentrate effluent. *International Institute for sugar-beet Research*, Bruxelles.
- Haaksma J., 1982. Valuer alimentaire de la pulpe surpressée comparée aux autres aliments pour bétail. *Publication trimester.*, IRBAB, 4, 173-184.
- INRA, 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. INRA Publication, Paris.
- Kampues J., Dayen M., Meyer H., 1983. Silage aus unterschiedlich melassierten Pressschitzeln in der Rindmast. *Wirtschaftseigene Futter*, 20, 110-127.
- Karalozos A., Giouzeljannis A., 1988. A note on the use of sugar-beet pulp silage and molasses in the diet of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 20,13-18.
- Kılıç A., 1986. Silo yemi öğretim, öğrenim ve uygulama önerileri. Bilgehan Basımevi, İzmir.
- Leterme P., Thewis A., Culot M., 1992. Supplementation of pressed sugar-beet pulp silage with molasses and urea, laying hen excreta or soybean meal in ruminant nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 39, 209-225.
- Levendoglu T., Karslı MA., 2010. Yaş şeker pancarı posasının buğday kepeği ile birlikte silolanma olanakları ile silaj kalitesi ve sindirilebilirliğinin belirlenmesi (II.Sindirilebilirlik). *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21, 179-183.
- Leventini MW., Hunt CW., Roffler RE., Casebolt DG., 1990. Effect of dietary level of barley-based supplements and ruminal buffer on digestion and growth by beef cattle. *Journal of Animal Science*, 68, 4334-4344.
- Mossakowska K., 1990. Ensilage of beet pulp with high degree of pressing. *Gazeta-Cukrownicza*, 98, 157-158.
- Nout MJR., Bouwmeester HM., Haaksma J., Van Dijk H., 1993. Fungal growth in silages of sugar beet press pulp and maize. *Journal of Agricultural Science*, 121, 323-326.
- NRC., 1985. Nutrient requirements of sheep. National Academy Press. Washington.
- Orskow ER., Hovell FD., Mould F., 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feed stuffs. *Tropical Animal Production*, 5, 195-213.
- Öztürk Y., Karslı MA., Aldemir R., Bolat D., 2011. Effects of substituting barley with wet sugar beet pulp silage prepared with wheat bran on fattening performance, carcass quality of lambs and cost. *Journal of the Faculty of*

- Veterinary Medicine, Kafkas University, 17, 445-450.
- Petit HV., Flipot PM., 1992. Source and feeding of nitrogen on growth and carcass characteristics of beef steers feed grass as hay or silage. Journal of Animal Science 70, 867-875.
- Şahin K., Çerçi IH., Güler T., Şahin N., Kalender H., Çelik S., 1999. Farklı silaj katkı maddelerinin yaş şeker pancarı posası silajı kalitesine etkileri. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi, 23, 285-292.
- Vandergeten JP., Vanstallen M., 1989. Reussir l'ensilage de pulpe surpresee. Betteravier-Bruxelles, 23, 15-17.
- Van Soest PJ., Robertson JB., Lewis D., 1991. Methods of dietary fiber neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 7, 3583-3597.
- Wanapat M., Sundstol F., Garmo TM., 1985. A comparison of alkali treatment methods to improve the nutritive value of straw. 1. digestibility and metabolisability. Animal Feed Science and Technology, 12, 295-309.



## Ketoprofenin 6-Fosfoglukonat Dehidrogenaz Aktivitesi Üzerine *In Vitro* ve *In Vivo* Etkisinin Araştırılması\*

Fatma GÜR<sup>1✉</sup>, Şükrü BEYDEMİR<sup>2</sup>, Kenan GÜMÜŞTEKİN<sup>3</sup>, Nuri BAKAN<sup>4</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
3. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bolu, TÜRKİYE.
4. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

**Özet:** Bu çalışmada 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (E.C.1.1.1.44;6PGD) enzimi insan eritrositlerinden saflaştırıldı. Saflaştırma işlemi hemolizatın hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi ve 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi yöntemi ile gerçekleştirildi. Enzimin saflık derecesi SDS-PAGE elektroforez yöntemi ile belirlendi. Enzim üzerine ketoprofenin *in vitro* ve *in vivo* etkisi araştırıldı. Tüm saflaştırma işlemleri sonunda insan eritrosit 6PGD enzimi 742 kat saflaştırıldı. Eritrosit 6PGD enzimi %50 verimle, spesifik aktivite 0.46 U/mg olarak elde edildi. Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 340 nm'de Beutler metoduna göre ölçüldü. Çalışmada kullanılan ketoprofen ilacının *in vitro* şartlarda enzim aktivitesini inhibe ettiği gözlemlendi. *In vitro* inhibe eden bu ilaca ait  $IC_{50}$  değeri düşük olarak belirlendi. Daha sonra ketoprofenin *in vivo* inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla Yeni Zelanda albino tırü tavşanlar ile çalışmalar yapıldı. İlacın 6PGD enzim aktivitesi üzerine *in vivo* etkisi incelendiğinde I. saatte ( $P<0.01$ ) ve III. saatte ( $P<0.01$ ) ketoprofen ilacının enzim aktivitesini istatistiksel olarak önemli derecede inhibe ettiği gözlemlendi.

**Anahtar kelimeler:** 6 fosfoglukonat dehidrogenaz, Eritrosit, İlaç, İnhibisyon.

## *In Vitro* and *In Vivo* Effect of Ketoprofen on 6-Phosphogluconate Dehydrogenase Enzyme Activity

**Abstract:** In this study, 6-phosphogluconate dehydrogenase (E.C.1.1.1.44; 6PGD) was purified in human erythrocytes. This process was carried out by the preparation of hemolysate, precipitation by  $(NH_4)_2SO_4$  and 2',5'-ADP Sepharose 4B affinity chromatography. The degree of purity of the enzyme was determined with SDS-PAGE electrophoresis. The effect of ketoprofen on the enzyme was investigated *in vitro* and *in vivo*. Human erythrocyte 6PGD was purified in 742-fold at the end of all purification processes. The recovery of 6PGD was 50%, and its specific activity was 0.46U/mg in erythrocytes. Enzyme activity was spectrophotometrically measured using the Beutler method at 340 nm. Ketoprofen inhibited the enzyme activity in *in vitro* conditions.  $IC_{50}$  value of the drug inhibition *in vitro* was determined. For the drug having low  $IC_{50}$  value (drug concentrations which produce 50% inhibition) (ketoprofen), *in vivo* studies were performed in New Zealand albino rabbits. In the evaluation of the *in vivo* effect of drug on 6PGD activity, it was observed that ketoprofen given at the first ( $P<0.01$ ) and third hour ( $P<0.01$ ), significantly inhibited the 6PGD activity.

**Key words:** 6-phosphogluconate dehydrogenase, Drug, Erythrocyte, Inhibition.

✉ Fatma GÜR

Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Erzurum, TÜRKİYE  
e-posta: fatma.gur@atauni.edu.tr

\*Bu çalışma, Fatma Gür'ün "İnsan Eritrosit 6-fosfoglukonat Dehidrogenaz Enziminin Saflaştırılması, Bazı İlaçların Enzim Aktivitesi Üzerine *In Vitro* ve Tavşanlarda *In Vivo* Etkisinin İncelenmesi" başlıklı doktora tezinin bir kısmından özetlenmiştir.

## GİRİŞ

Tedavide ağrı kontrol yöntemlerinin başında analjezik grubu ilaçlar gelmektedir. Analjezikler toplumda antibiyotiklerle birlikte en sık kullanılan ilaçların başında gelmektedir. Yaygın kullanılan analjeziklerden olan ketoprofen, akut ve kronik ağrı sendromlarında ağrının kontrolünü sağlama amacıyla tercih edilmektedir (Williams ve Upton, 1998).

Ketoprofen; antienflamatuvar, analjezik, antipiretik etkili bir ilaçtır. Gastrointestinal sistemde bozukluk gibi yan etkisinin yanı sıra santral sinir sistemini (SSS) deprese eder, aynı zamanda laterji ve unutkanlık yapabilmektedir (Beutler, 1971).

Canlı sistemlerde enzim aktiviteleri bazı kimyasallar, oksidatif stres, genetik hastalıklar, çevresel şartlar gibi çeşitli durumlarda belirli varyasyonlar gösterir. Enzim aktivite değişiklikleri ile ilgili bir çok literatür mevcuttur. Bunların birçoğunun insan ve hayvan doku enzim aktivitelerini azalttığı veya yükselttiği gösterilmiştir (Beydemir ve ark., 2000). Bunlara ilaveten 6PGD enzim aktivitesi üzerine bazı anti-kanser ilaçlarının *in vitro* ve *in vivo* etkileri laboratuvarımızda çalışılarak söz konusu ilaçların inhibisyon etkisi gösterilmiştir (Ozabacıgil ve ark., 2008).

6PGD pentoz fosfat metabolik yolunun ikinci oksidatif basamağını katalizleyen önemli bir enzimdir. 6PGD eksikliği yaygın olarak görülen bir hastalık olmamakla birlikte enzim eksikliğinde görülen ağır hemolitik vakalar seyrekte olsa rapor edilmiştir (Walzem ve ark., 1991). 6 fosfoglukonat, fosfoglukoz izomerazın bir inhibitörüdür ve hücrede birikimi, glikoliz yolunu inhibe eder (Barrett, 1997).

6PGD redüktif biyosentezlere NADPH, nükleotit sentezine riboz 5-fosfat sağlaması bakımından birçok organizma için son derece önemlidir (Tandoğan ve Ulusu, 2003). 6PGD eksikliğinde hemolitik anemi oluşur (Caprari ve ark., 2001). Bütün bunlardan dolayı 6PGD canlı organizmalar için hayati öneme sahiptir.

Bu çalışmada *in vitro* ve *in vivo* olarak ketoprofenin insan eritrosit enzimi 6PGD üzerine *in*

*vitro*, tavşan eritrosit 6PGD enzimi üzerine de *in vivo* etkisi araştırıldı. Ketoprofen için  $K_i$  değerleri ve inhibisyon tipi Lineweaver-Burk grafikleri ile belirlendi.

## MATERYAL ve METOT

Kimyasal ve reaktifler; ketoprofen Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi-Erzurum'dan temin edildi. 2',5'-ADP Sepharose 4B Pharmacia'dan satın alındı. NADP<sup>+</sup>, 6-fosfoglukonat, protein ölçüm reaktifleri Sigma'dan temin edildi. Diğer kimyasallar Sigma ve Merck firmalarından temin edildi. *In vivo* çalışmalarda kullanılan Yeni Zelanda albino tipi tavşanlar Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarından temin edildi.

## Hemolizat Hazırlanması ve Hemoglobin Tayini

Sağlıklı bireylerden alınan taze kan örnekleri EDTA'lı tüplere konuldu. 15 dakika 2500xg'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüplerin üst kısmındaki plazma ve lökosit tabakaları dikkatli bir şekilde ayrılıp atıldı. Altta kalan eritrositler 0.15 M'lık KCl ile 3 defa yıkandı. Her defasında 2500xg'de santrifüj edilerek süpernatant kısımları uzaklaştırıldı. Altta kalan eritrositler hacimlerinin beş misli 0°C'deki distile su ile hemoliz edildi. Bundan sonra hücre zarlarını uzaklaştırmak için +4°C'de 10.000xg'de yarım saat süreyle santrifüj edildi. Hücre zarları atılıp üstteki süpernatant kısmı hemolizat eldesi olarak dikkatli bir şekilde alındı. Böylece hemolizat hazırlanmış oldu. Hemolizatta hemoglobin (Hb) tayini siyanomethemoglobin metoduna göre ölçüldü (Beutler, 1971; Shreve ve Levy, 1977; Ninfali ve ark., 1990; Özabacıgil, 2005). Tüm çalışmalar +4°C de gerçekleştirildi.

## Amonyum Sülfat Çöktürmesi ve Diyaliz

Proteinler çok değerlikli elektrolitler olduklarından iyonlara benzer şekilde hareket ederler. Yüksek tuz konsantrasyonlarında, protein



moleküllerini çevreleyen ve çözünür halde tutan su molekülleri, tuzdaki iyonlar tarafından çekilir ve proteinler çöker. Bu çökmede molekül ağırlığı ve iyonik şiddet etkilidir. Dolayısıyla değişik tuz konsantrasyonlarında değişik proteinler çökmektedir. Amonyum sülfat çöktürmesi deneyleri proteinlerin bu özelliklerinden faydalanılarak yapıldı (Lehninger, 1993; Keha ve Küfrevioğlu, 2004; Özabacıgil, 2005). Önceden elde edilen hemolizatta enzimin % 35-65 aralığındaki amonyum sülfat çöktürmesi sonucu oluşan çökeltide olduğu daha önceki çalışmamızda gösterildiğinden yine bu aralıkta katı amonyum sülfatla çöktürme işlemi yapıldı. Amonyum sülfat çöktürmesi sırasında hemolizata katı  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  yavaş yavaş katıldı ( $+4^\circ\text{C}$ 'de). Her defasında daha önce katılan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 'ın çözünmüş olmasına dikkat edildi. Bu işlem bir saat kadar sürdü. Amonyum sülfatın hemolizatta çözünme işlemi magnetik karıştırıcı ile yapıldı. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra hemolizat 5.000 xg'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen çökeltiler yeteri kadar 50 mM fosfat tamponunda (pH=7) çözüldü. Amonyum sülfat çöktürmesi sonucu elde edilen karışım diyaliz torbasına yerleştirildi. Enzimin içinde bulunduğu karışım, 50 mM  $\text{KCH}_3\text{COO}$ /50 mM  $\text{K}_3\text{PO}_4$  (pH=7) tamponuna karşı 2 saat boyunca 2 defa tampon yenilenip değiştirilerek diyaliz edildi (Ninfali ve ark., 1990; Özabacıgil, 2005). Diyaliz işlemi  $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabı içinde manyetik karıştırıcı üzerinde yapıldı. Diyaliz işleminden sonra hazırlanan diyalizatta aktivite ve protein tayini yapıldı (Segel, 1968; Beutler, 1971; Özabacıgil, 2005).

#### Enzim Aktivite Ölçümü

6PGD enzim aktivitesinin ölçüm prensibi reaksiyon ürünü olan NADPH'nin 340 nm'de absorpsiyon artışının ölçülmesi ile rutin olarak ifade edilmektedir (Beutler, 1971; Özabacıgil, 2005).

#### 2',5'-ADP Sepharose 4B Afinite Kolonunun Hazırlanması

Afinite kolonu Beydemir ve ark.'nın çalışmalarına

göre hazırlandı (Beydemir ve ark., 2004; Özabacıgil, 2005). Amonyum sülfat çöktürmesinden elde edilen diyalize numune 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite kolonuna tatbik edildi. Daha sonra kolona yıkama tamponu tatbik edildi. pH=7.85'deki EDTA'lı elüsyon tamponu ile kolondan elüatlar alındı. Aktivite gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Tüm bu çalışmalar  $+4^\circ\text{C}$ 'de yapıldı.

#### Protein Ölçümü

Saflaştırma basamakları boyunca protein miktarları spektrofotometrik olarak Bradford metoduna göre belirlendi. Bu yöntem, proteine Coomassie Blue G-250'nin bağlanması esasına dayanmaktadır (Bradford, 1976; Özabacıgil, 2005).

#### SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

Enzimin saflığının kontrolü Laemmli tarafından geliştirilen %3-8 kesikli sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi yöntemine göre yapıldı (Laemmli, 1970; Özabacıgil, 2005).

#### In Vitro İlaç Çalışmaları

İnsan eritrosit 6 fosfoglukonat dehidrogenaz enzimi üzerine ketoprofenin etkisini göstermek için saf enzim içeren tüpte kontrol olarak % Aktivite hesaplandı. Daha sonra 6 farklı konsantrasyonda hazırlanan ilaç çözeltileri saf enzim içeren tüpe ilave edildi. Bu ilaçların % Aktivite-[I] grafiği çizildi. Grafikteki eğrinin denkleminde  $IC_{50}$  değeri hesaplandı.

#### In Vivo İlaç Çalışmaları

Bu çalışmada ağırlıkları 1200-1500 gr arasında değişen 20 adet Yeni Zelanda albino türü tavşan kullanıldı. Kontrol ve ilaç için oluşturulan gruplarda 10 tane denek kullanıldı. Hayvanlara uygulanması gereken tedavi ilaç dozları belirlendi. Hayvanlara uygulanması gereken teröpatik ilaç dozları mg/kg olacak şekilde hesaplandı. Bu amaçla ketoprofen 2-5 mg/kg (Mulcahy ve ark., 2003) olacak şekilde

hayvanlara i.p. olarak uygulandı. 1.,3. ve 5.'inci saatlerde alınan kan örneklerinde (Akyuz ve ark., 2004) 6PGD aktivitesi spektrofotometrik olarak tespit edildi (Beutler, 1971). Hemolizatta hemoglobin tayini siyanomethemoglobin yöntemiyle bakıldı (Beutler, 1971; Shreve, 1977; Ninfali, 1990). *In vivo* çalışma sonuçları EU/gHb olarak hesaplandı.

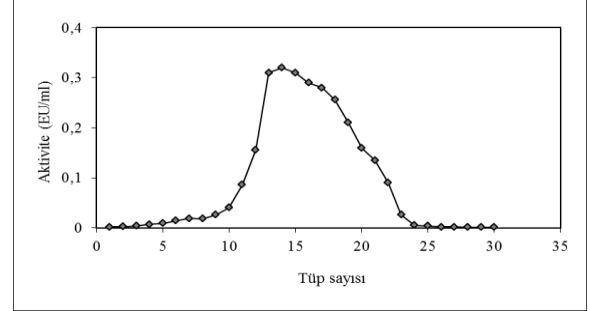
### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için paired t testi kullanıldı. Sonuçlar  $\pm$  SD olarak verildi ve  $P < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

İnsan eritrosit 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz enzimi saflaştırma çalışmasında ilk olarak *in vitro* incelemelerde kullanılmak üzere hemolizat hazırlandı. Hemolizatta 6PGD aktivitesi tayini yapıldı. Enzimi saf elde edebilmek için %35-65 amonyum sülfat çöktürmesi ve 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite jel kromatografisi teknikleri kullanıldı. Enzim 742 kat

saflaştırıldı. Spesifik aktivite 0,46 U/mg olarak bulundu ve enzim % 50 saflaştırıldı. Sonuçlar Şekil 1'de gösterildi.



**Şekil 1.** İnsan eritrosit 6PGD enziminin 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi yöntemi ile saflaştırılması grafiği.

**Figure 1.** Purification graph of human erythrocytes 6PGD by method of 2',5'-ADP Sepharose 4B affinity chromatography.

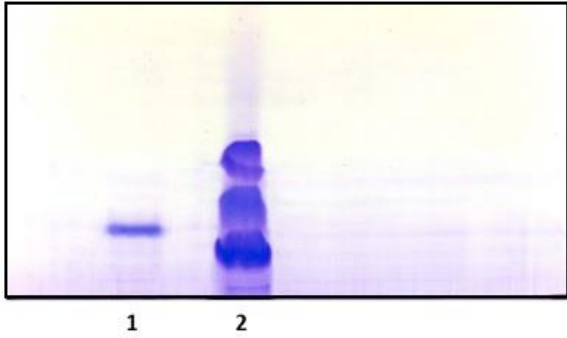
İnsan eritrosit 6PGD enziminin saflaştırılması çalışmalarında uygulanan her bir yöntem sonucunda elde edilen örneklere ait protein ve aktivite değerleri hesaplanarak oluşturulan saflaştırma tablosu Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** İnsan eritrosit 6PGD enziminin saflaştırılması basamakları.

**Table.1.** Purification schemes of the enzyme of 6PGD from human erythrocytes.

Saflaştırma Basamakları	Aktivite (EU/mL)	Total Hacim (mL)	Protein (mg/mL)	Total protein (mg)	Total aktivite (EU)	Spesifik aktivite EU/mg	Verim (%)	Saflaştırma Katsayısı
Hemolizat	0.0035	25	5.63	140.75	0.0875	0.00062	100	1
Amonyum sülfat çöktürmesi (35-65)%	0.0048	15	0.220	3.3	0.072	0.022	82	35.5
2',5'-ADP Sepharose 4B kromatografisi	0.0088	5	0.019	0.095	0.044	0.46	50	742

SDS-PAGE metodu ile saflaştırılan saf enzim Şekil 2'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Afinite kromatografisi ile insan kanından saflaştırılan 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enziminin SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi fotoğrafı [(1) İnsan 6PGD Enzimi, (2) Standart Proteinler: karbonik anhidraz (Bovine, 29.000), Ovalbumin (Tavuk, 45.000) ve Albumin (Bovine, 66.000).

**Figure 2.** SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of 6PGD purified by affinity gel. [(1) Human 6PGD Enzyme, (2) Standard proteins; bovine carbonic anhydrase (29.000), chicken ovalbumin (45.000) and bovine albumin (66.000).

Ketoprofenin inhibitör etkisi *in vitro* olarak ölçüldü. Daha sonra % aktiviteye bağlı ilaç konsantrasyon grafiğinden  $IC_{50}$  değeri elde edildi (Tablo 2). Bu değer ketoprofen için 3.68 mM olarak bulundu.

Bunlara ilaveten ketoprofen için Lineweaver-Burk grafiği çizilerek  $K_i$  değeri hesaplanarak Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** İnsan eritrosit 6PGD enzimi için bulunan  $IC_{50}$ ,  $K_i$  değerleri ve inhibisyon tipi.

**Table 2.** The  $IC_{50}$ ,  $K_i$  values and inhibition types for ketoprofen of human erythrocyte 6PGD.

Inhibitör	$I_{50}$ (mM)	[I](mM)	$K_i$ (mM)	Ortalama $K_i$ (mM)	Inhibisyon Tipi
		1.9	3.14		
Ketoprofen	3.68	3.9	1.95	2.48	Yarışmasız
		6.86	2.35		

$K_i$  değeri ketoprofen için 2.48 mM olarak hesaplandı. Ketoprofenin *in vivo* etkisi Tablo 3’te gösterildi.

Kontrol için enzim aktivitesi  $1.15 \pm 0.13$  U/gHb olmasına rağmen, ilaç verilen grupta 1., 3. ve 5.

saatlerde sırasıyla  $0.61 \pm 0.20$  U/gHb,  $0.56 \pm 0.23$  U/gHb,  $1.35 \pm 0.21$  U/gHb olarak elde edildi.

**Tablo 3.** Tavşan eritrosit 6PGD enzimi üzerine ketoprofen ilacının *in vivo* etkisi (n=6).

**Table 3.** *In vivo* effects of ketoprofen on human red blood cell 6-phosphogluconate dehydrogenase activity (n=6).

Uygulama süresi	$X \pm SD$ (n=6)	P
Kontrol	$1.15 \pm 0.13$	-
1	$0.61 \pm 0.20$	<0.01
3	$0.56 \pm 0.23$	<0.01
5	$1.35 \pm 0.21$	>0.05

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Bir çok kimyasalın düşük dozlarının bile özellikle spesifik enzimlerin inhibisyonuna sebep olarak normal enzim aktivitesini değiştirdiği ve canlı metabolizmaya etki ettiği bilinmektedir (Beydemir ve ark., 2000). Daha önce yapılan çalışmalarda insan eritrositleri dâhil farklı doku ve kan numunelerinde farklı enzimler üzerine bazı ilaç ve kimyasalların *in vivo* ve *in vitro* etkileri araştırılmıştır. Mesela “Akyüz ve ark., (2004) insan eritrosit 6PGDH enzimi üzerine bazı antibiyotiklerin inhibe edici etkisini göstermiştir”. Başka bir çalışmada C vitaminin 6PGD aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (Puskas ve ark., 2000). Bunlara ilaveten daha önceki bir çalışmamızda kanser tedavisinde kullanılan sisplatin ve 5-Fluorouracil ajanlarının 6PGD aktivitesini düşürdüğünü göstermiştik (Ozabacigil ve ark., 2008). Tedavide kullanılan vanadatla yapılan bir çalışmada ilacın kuzu karaciğeri enzimini inaktive ettiği tespit edilmiştir (Bergamini ve ark., 1995). Sıçan eritrositlerinde yapılan enzim çalışmalarında amikasin, ampicilin ve netilmisin sülfatın enzimi inhibe ettiğini ve metamizol’ün enzim aktivitesi üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Akyüz ve ark., 2004).

Birçok kimyasal ve tedavide kullanılan ilaçların 6PGD enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi incelenmesine rağmen çalışmada kullandığımız

analjezik ilaçla ilgili herhangi bir literatür bilgisi bulunmamaktadır. 6PGD enzimi heksozmonofosfat metabolik yolunun 3. önemli enzimidir. 6-fosfoglukonatın ribuloz 5 fosfat ve CO<sub>2</sub>'e oksidatif dekarboksilasyonunu kataliz etmektedir. Bu reaksiyon esnasında NADP<sup>+</sup> NADPH'a indirgenir. İndirgenen bu NADPH redükte glutatyon üreterek hücreleri oksidatif hasara karşı koruması bakımından oldukça önemlidir. NADPH eksikliğinde canlı sistemlerde redükte glutatyon azalarak hücrenin ölümüne sebep olmaktadır. NADPH ayrıca yağ asitleri, steroid ve bazı aminoasitler gibi birçok biyomoleküllerin sentezinde görev alan bir koenzimdir.

Çalışmamızda 6PGD enzimi insan eritrositlerinden 2',5'-ADP Sepharose 4B Afinite kromatografisi yöntemi ile % 50 verimle 742 kat saflaştırıldı. Daha sonra ketoprofenin enzim üzerine *in vitro* kinetik etkisi incelendi. 6PGD enzimi için bu ilacın IC<sub>50</sub> ve K<sub>i</sub> parametreleri hesaplandı. İlacın enzim üzerine inhibisyon etkisine göre inhibisyon tipi belirlendi. Elde edilen tüm bu çalışma sonuçlarından ilaç moleküllerinin enzimin aktif bölgesine bağlandığı düşünüldü. Tavşanlarla yapılan *in vivo* çalışmalarda ketoprofenin enzim aktivitesini önemli miktarda inhibe ettiği görüldü. Yapılan tüm bu çalışmalar sonucu *in vivo* ve *in vitro* çalışma sonuçlarının birbirini doğruladığını görmüş olduk.

Bu sonuçlara göre diyebiliriz ki hastalara söz konusu ilaçlar uygulanmadan önce kişilerin 6PGD eksikliğinin olup olmadığı araştırılması gerekmektedir. Özellikle 6PGD eksikliği olan birçok hasta için bu ilaçların kontrolsüz kullanımı tehlikeli olabilir. Ayrıca enzimi inhibe eden söz konusu bu ilaçların insan vücudundaki diğer enzimler üzerinde de etkisi olabileceği düşünüldüğünde ketoprofenin tedavi-doza aralığının yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

#### KAYNAKLAR

Akyüz M., Erat M., Çiftçi M., Gümüştekin K., Bakan N., 2004. Effects of some antibiotics on human erythrocyte 6-Phospho Gluconate

Dehydrogenase: An in vitro and in Vivo study. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 19, 361–365.

Barrett MP., 1997. The pentose phosphate pathway and parasitic protozoa. Parasitology Today 13, 11-16.

Bergamini CM., Signorini M., Hanau S., Rippa M., De Laureto PP., Cremonini MA., 1995. Inactivation and cleavage of liver 6-P-gluconate dehydrogenase during irradiation in the presence of vanadate. Archives of Biochemistry and Biophysics, 321, 1-5.

Beutler E., 1971. Redcell metabolism. Manual of biochemical methods. 12, 68-70, Academic press, London.

Beydemir Ş., Çiftçi M., Özmen İ., Büyükokuroğlu ME., Özdemir H., Küfrevioğlu Öİ., 2000. Effects of some medical drugs on enzyme activities of carbonic anhydrase from human erythrocytes in vitro and from rat erythrocytes in vivo. Pharmacological Research, 42, 187-191.

Beydemir Ş., Gülçin I., Küfrevioğlu Öİ., Çiftçi M., 2003. Glucose 6-phosphate dehydrogenase: In vitro and in vivo effects of dantrolene sodium. Polish Journal of Pharmacology, 55, 787-792.

Beydemir Ş., Çiftçi M., Yılmaz H., Küfrevioğlu Öİ., 2004. 6-Phosphogluconate Dehydrogenase: Purification, Characterization and Kinetic Properties from Rat Erythrocytes. Turkish Journal of Veterinary&Animal Sciences, 28, 707-714.

Bradford MM., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 7, 248-254.

Caprari P., Caforio MP., Cianciulli P., Maffi D., Pasquino MT., Tarzia A., Amadori S., Salvati AM., 2001. 6-Phosphogluconate dehydrogenase deficiency in an Italian family. Annals of Hematology, 80, 41-44.

Keha E., Küfrevioğlu Öİ., 2004. Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum.

Laemmli DK., 1970. Cleavage of structural proteins

- during in assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lehninger AL., 1993. *Principles of Biochemistry*. 2<sup>nd</sup> ed., Worth Publishers, New York.
- Mulcahy DM., Tuomi P., Larsen RS., 2003. Differential mortality of male spectacled eiders (*Somateria fischeri*) and king eiders (*Somateria spectabilis*) subsequent to anesthesia with propofol, bupivacaine, and ketoprofen. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 17, 117-123.
- Ninfali P., Orsenigo T., Barociani SR., 1990. Rapid purification of glucose 6-phosphogluconate dehydrogenase from mammal's erythrocytes. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 20, 297-309.
- Özabacıgil F., 2005. İnsan eritrosit 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enziminin saflaştırılması, bazı ilaçların enzim aktivitesi üzerine in vitro ve tavşanlarda in vivo etkisinin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
- Ozabacıgil F., Beydemir Ş., Çiftçi M., Gümüştekin K., Bakan N., 2008. Cisplatin and 5-fluorouracil inhibits 6-phosphogluconate dehydrogenase activity in human erythrocytes in vitro and in vivo. *Asian Journal of Chemistry*, 20, 3189-3196.
- Puskas F., Gergely P., Banki K., Perl A., 2000. Stimulation of the pentose phosphate pathway and glutathione levels by dehydroascorbate, the oxidized form of vitamin C. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14, 1352-1361.
- Segel IH., 1976. *Biochemical calculations*. John Wiley and Sons, Inc., 403, New York.
- Shreve DS., Levy HR., 1977. On the molecular weight of human glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 78, 1369-1375.
- Tandoğan B., Ulusu N., 2003. Review. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz: Moleküler ve kinetik özellikler. *Türk Biyokimya Dergisi*, 28, 268-273.
- Walzem RL., Storebakken T., Hung SSO., Hansen RJ., 1991. Relationship between growth and selected liver enzyme activities of individual rainbow trout. *Journal of Nutrition*, 121, 1090-1098.
- Williams RL., Upton RA., 1998. The clinical pharmacology of ketoprofen. *Journal of Clinical Pharmacology*, 28, 13-22.



## Deneysel Olarak Diabet Oluşturulmuş Ratlarda Yara İyileşmesinde Sildenafil Sitratin Bazı Hematolojik Parametrelere ve Mineral Maddelere Etkisi\*

Bahat COMBA<sup>1</sup>, Leyla MİS<sup>1</sup>, Arzu COMBA<sup>2</sup>, Ali ÇINAR<sup>1</sup>, Abuzer TAŞ<sup>3</sup>✉

1. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
2. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
3. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.

**Özet:** Bu çalışmada sildenafil sitratin yara iyileşmesinin erken dönemlerinde bazı hematolojik parametreler ve mineral maddeler üzerine olan etkisi araştırıldı. Bu amaçla her grupta 10'ar adet rat olacak şekilde üç grup (1. Grup: Kontrol, 2. Grup: Diabet ve 3. Grup: Diabet + Sildenafil Sitrata) oluşturuldu. Birinci ve ikinci gruba normal yara bakımı, üçüncü gruba ise normal yara bakımının yanında 0.7 mg/kg dozunda 3 gün süreyle günde bir kez olmak üzere intraperitoneal (i.p.) sildenafil sitrat verildi. Uygulamalara başlamadan önce 1. 2. ve 3. günlerde kan alındı. Tam kanda eritrosit (RBC), hemoglobin (HG), hematokrit (HCT), değerlerine klasik yöntemlerle; serumda demir(Fe), mangan (Mn), bakır (Cu), çinko (Zn), kurşun (Pb), potasyum (K), kalsiyum (Ca) ve magnezyum (Mg) değerlerine ise spektrofotometrik metotla bakıldı. Sildenafil sitrat, diabetli yaralarda iyileşme sürecine olumlu etki eden minerallerden Zn, Cu ve Mg değerlerini arttırdı. İlk dönemlerde iyileşme sürecine olumsuz etki eden Fe minerali değerlerini düşürdü. Sonuç olarak, bu şekilde yara iyileşmesinin ilk dönemi olan yangısel dönemi kısaltarak, iyileşme sürecine olumlu etki yaptığı kanaatine varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Diabet, Hematolojik parametreler, Mineral maddeler, Rat, Yara iyileşmesi.

## The Effects of Sildenafil Citrate on Some Haematological Parameters and Mineral Matters in Wound Healing of Rats Created Experimental Diabetes

**Abstract:** In this study, the effect of sildenafil citrate on some haematological parameters and mineral levels in the early stages of wound healing was investigated. Rats were randomly allocated into three treatment groups consisted of 10 rats in each. Groups were designed as control (group I), diabetic (group II) and diabetic plus sildenafil citrate (group III), respectively. Normal wound care was performed for control and group II. Sildenafil citrate was also administered with normal wound care for group III at 0.7 mg/kg dosage for 3 days via intraperitoneally (i.p.) once a day. Blood samples were collected before and at 1., 2., and, 3. days of after administration. Full blood erythrocyte (RBC), haemoglobin (HG), haematocrit (HCT) values were determined using standard methods; spectrophotometric methods were used for determination of the serum iron (Fe), manganese (Mn), copper (Cu), zinc (Zn), lead (Pb), potassium (K), calcium (Ca), and magnesium (Mg) levels. Sildenafil citrate increased the serum mineral levels (i.e. Zn, Cu and Mg), as having favourable impact on diabetic wound healing process. Likewise, it decreased the level of iron mineral, as having an adverse effect on the healing process. In conclusion, it was concluded that sildenafil citrate had a favourable effect on the healing process by shortening the inflammatory period, which is the first period of wound healing process.

**Key words:** Diabetes, Haematological Parameters, Mineral Matters, Rat, Wound Healing.

✉ Abuzer TAŞ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.  
e-posta: abuzertas@hotmail.com

\*Bu çalışma 39. Ulusal Fizyoloji Kongresinde poster bildiri olarak sunulmuştur.

## GİRİŞ

**D**iabetes mellitus kronik hiperglisemik bir bozukluk olup, basit bir hastalıktan ziyade bir sendrom olarak isimlendirilir (Goodson ve Hunt, 1979). Yara iyileşmesinde gecikmeye sebep olan diabet, inflamatuvar yanıtın, angiogenesisin ve fibroplasinin inhibisyonu; kollagen depozisyonunda defektler ve ekstrasellüler matriksin farklılığı ile karakterizedir. (Fahey ve ark., 1991; Prakash ve ark., 1974).

Yara iyileşmesi lokal üretilen mitojenler ve kemotaktik faktörler tarafından düzenlenir. Yara iyileşmesi, yara kenarına yangı hücrelerinin ve fibroblastların hareketi; yeni ekstrasellüler matriksi içeren granüloza dokusunun şekillenmesi ve mikrovaskülarizasyon ile dokuya özgü hücrelerin çoğalması şeklinde en az 3 önemli hücresel olaydan oluşmaktadır (Taş ve ark., 2003). Sildenafil sitrat direkt gevşetici etkisi yoktur, fakat bu etkisini siklik guanosin monofosfatın (cGMP) degradasyonundan sorumlu olan fosfodiesteraz tip 5 (PDE5)' i inhibe ederek nitrik oksit (NO) etkisini arttırarak gösterir. Sildenafil sitrat ile PDE5' in inhibisyonu, düz kaslarda gevşeme ile sonuçlanan cGMP seviyesinin artışına sebep olur. PDE5 trombositlerde, vasküler ve visseral düz kaslarda ve iskelet kaslarında bulunur (Anonymous, 1988). Artan vasküler permabilite yara iyileşmesinin erken fazı boyunca oluşur, hücrenin migrasyonu ve proliferasyonu için gerekli olan fibrince zengin matrixin depolanmasına teorik olarak izin verir (Brown ve ark., 1988). Nöronları, kasları, nötrofilleri ve makrofajları içeren birçok tipteki normal ve yaralanmış hücrelerin her ikisi de Nitrik Oksit Sintaz (NOS) tarafından L-arginin bozulması ile NO oluşturabilir (Stewart ve ark., 1994).

Bu çalışmada, sildenafil sitratın yara iyileşmesinde etkili olduğu düşünülen bazı hematolojik parametreler ve mineral maddeler üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Hayvanlar

Bu çalışma için Atatürk Üniversitesi hayvan üretim merkezinden temin edilen, toplam ağırlıkları

250-300 gr olan 30 adet Swiss albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar bireysel kafeslerde standart koşullar altında (12 saat gece-gündüz, 25±2 °C sıcaklık) barındırıldı ve standart pellet yem ve su ad libitum olarak verildi. Ratlar, her bir grupta 10'ar adet olacak şekilde rastgele 3 gruba (1.grup: kontrol-diabet olmayan; 2.grup: diabet ve 3.grup: diabet+Sildenafil sitrat) ayrıldı. Ratların sırt bölgesinde Xylazine HCl (1 mg/kg i.m.) + Ketamine HCl (50 mg/kg i.m.) anestezisi altında 1 cm çapında tam kat deri yarası oluşturuldu. Birinci ve ikinci gruba sadece normal yara bakımı, üçüncü gruba ise normal yara bakımının yanında 0.7 mg/kg dozunda 3 gün süreyle günde bir kez olmak üzere i.p. sildenafil sitrat verildi. Çalışmaya başlamadan önce (0.gün) ve yara oluşturulduktan sonraki 1. 2. ve 3. günlerde bütün hayvanlardan kanlar alındı. Çalışmada yerel etik kurul ilkelerine uyuldu.

### Alloksan ile Diabet

İkinci ve 3. gruptaki hayvanlarda, 120 mg/kg dozunda % 5 distile suda çözülmüş alloksan monohidratın 3 gün boyunca günde bir kez i.p. enjeksiyonu ile diabet oluşturuldu. En son alloksan uygulamasından sonraki 3. günde kan glukoz konsantrasyonu belirlendi. Kan glukoz seviyesi 250 mg/dl'nin üzerinde olanlar çalışma grubunu oluşturdu (Jaouhar ve ark., 2000).

### Hematolojik Parametrelerin Analizi

Ratların kalplerinden kapaklı K3EDTA' lı vaküeynir tüplerine alınan 1 ml kan örneklerinde eritrosit, hemoglobin ve hematokrit değerleri klasik metodlarla çalışıldı.

### Mineral Madde Analizleri

Mineral analizleri için sarı kapaklı jelli plastik vaküeynir tüpüne alınan 1 ml kan örnekleri soğutmalı santrifüjde +4 °C, 2500 devirde 10 dk santrifüj edilerek serumları çıkarıldı ve numaralandırılıp eppendorf tüplere konuldu.

Analizleri yapılana kadar numuneler -20 °C' de muhafaza edildi. Analizler, Thermo Solaar AA&Series Spektrometresi'nde uygun şartlar sağlandıktan sonra çalışıldı (Morton ve Roberts, 1993).

#### İstatistiksel Analiz

Elde edilen tüm veriler SAS paket programında

Duncan's Multiple Range Test yapılarak değerlendirildi (SAS, 1998).

#### BULGULAR

Her 3 gruptaki hemogram ve mineral madde sonuçları Tablo 1-3' te verildi.

**Tablo 1.** 1. Gruptaki ratların hemogram ve mineral madde sonuçları (n=10).

**Table 1.** The results of hemogram and mineral matters of rats in group 1 (n=10).

	0.gün	1.gün	2.gün	3.gün	P
RBC (M/mm <sup>3</sup> )	7.90±0.21	7.94±0.49	7.38±0.78	6.94±1.02	
HG (g/dL)	17.04±0.77 <sup>b</sup>	19.01±1.46 <sup>a</sup>	15.15±1.20 <sup>c</sup>	11.43±1.21 <sup>d</sup>	***
HCT (%)	47.55±1.02 <sup>a</sup>	48.51±2.53 <sup>a</sup>	41.91±2.75 <sup>b</sup>	35.33±3.39 <sup>c</sup>	***
Fe (ppm)	4.54±0.80 <sup>b</sup>	5.23±2.31 <sup>a</sup>	3.02±0.25 <sup>c</sup>	2.59±0.01 <sup>c</sup>	***
Mn (ppm)	0.02±0.01	0.01±0.00	0.02±0.00	0.01±0.00	
Cu (ppm)	1.01±0.07	1.21±0.11	1.40±0.21	1.06±0.03	
Zn (ppm)	1.40±0.37	1.35±0.24	1.06±0.04	1.06±0.03	
Pb (ppm)	0.42±0.04	0.37±0.02	0.07±0.03	0.18±0.01	
K (ppm)	146±3.88	159.99±0.98	165.77±4.37	141.48±0.22	
Ca (ppm)	60.92±18.29	75.19±9.79	65.18±0.98	72.00±0.90	
Mg (ppm)	20.78±0.71 <sup>a</sup>	22.23±3.93 <sup>a</sup>	18.24±0.26 <sup>b</sup>	21.00±0.69 <sup>a</sup>	***

<sup>a, b, c, d</sup>; aynı satırdaki farklı harflerle belirtilen ortalamalar arasında fark önemlidir (\*\*\*P< 0.001).

**Tablo 2.** 2. gruptaki ratların hemogram ve mineral madde sonuçları (n=10).

**Table 2.** The results of hemogram and mineral matters of rats in group 2 (n=10).

	0.gün	1.gün	2.gün	3.gün	P
RBC (M/mm <sup>3</sup> )	7.83±0.28	8.27±0.76	7.63±0.86	7.80±1.45	
HG (g/dL)	17.34±1.33	17.10±1.08	15.08±1.00	13.18±2.35	
HCT (%)	47.83±1.32 <sup>a</sup>	45.31±4.84 <sup>ab</sup>	42.33±3.77 <sup>ab</sup>	39.56±6.72 <sup>b</sup>	*
Fe (ppm)	3.26±0.047 <sup>c</sup>	6.27±1.13 <sup>a</sup>	2.38±0.46 <sup>c</sup>	5.13±2.04 <sup>b</sup>	***
Mn (ppm)	0.023±0.03 <sup>b</sup>	0.043±0.00 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>b</sup>	0.01±0.0 <sup>b</sup>	*
Cu (ppm)	1.02±0.07	1.24±0.20	1.22±0.09	1.11±0.09	
Zn (ppm)	0.92±0.35	1.47±0.06	1.29±0.03	0.88±0.42	
Pb (ppm)	0.30±0.13 <sup>b</sup>	0.52±0.12 <sup>a</sup>	0.07±0.050 <sup>c</sup>	0.16±0.00 <sup>c</sup>	***
K (ppm)	127.23±6.66 <sup>b</sup>	146.34±0.84 <sup>a</sup>	121.46±2.26 <sup>b</sup>	113.59±17.17 <sup>c</sup>	***
Ca (ppm)	62.41±7.48 <sup>b</sup>	81.48±3.18 <sup>a</sup>	58.95±5.68 <sup>b</sup>	63.98±3.21 <sup>b</sup>	***
Mg (ppm)	16.61±2.34 <sup>c</sup>	27.20±3.34 <sup>a</sup>	15.48±0.69 <sup>c</sup>	20.31±1.26 <sup>b</sup>	***

<sup>a, b, c, d</sup>; aynı satırdaki farklı harflerle belirtilen ortalamalar arasında fark önemlidir (\*P<0.05, \*\*\*P< 0.001).



**Tablo 3.** 3. gruptaki ratların hemogram ve mineral madde sonuçları (n=10).**Tablo 3.** The results of hemogram and mineral matters of rats in group 3 (n=10).

	0.gün	1.gün	2.gün	3.gün	P
RBC (M/mm <sup>3</sup> )	7.35±0.31	7.92±0.51	7.30±0.52	6.61±0.85	
HG (g/dL)	14.98±1.57 <sup>b</sup>	16.48±0.69 <sup>a</sup>	13.80±0.89 <sup>b</sup>	11.16±1.37 <sup>c</sup>	***
HCT (%)	43.65±3.96 <sup>a</sup>	44.7±2.30 <sup>a</sup>	39.00±2.60 <sup>b</sup>	33.21±3.47 <sup>c</sup>	***
Fe (ppm)	2.15±0.16 <sup>b</sup>	4.12±0.06 <sup>a</sup>	1.87±0.12 <sup>c</sup>	1.44±0.16 <sup>d</sup>	***
Mn (ppm)	0.11±0.10 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>b</sup>	0.01±0.00 <sup>b</sup>	0.01±0.00 <sup>b</sup>	***
Cu (ppm)	1.61±0.51 <sup>a</sup>	0.93±0.09 <sup>b</sup>	1.29±0.34 <sup>a</sup>	1.38±0.06 <sup>a</sup>	***
Zn (ppm)	0.82±0.05 <sup>c</sup>	0.90±0.03 <sup>b</sup>	1.07±0.02 <sup>a</sup>	1.08±0.08 <sup>a</sup>	***
Pb (ppm)	0.32±0.07 <sup>b</sup>	0.62±0.03 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>c</sup>	0.03±0.01 <sup>c</sup>	***
K (ppm)	122.79±3.25 <sup>b</sup>	156.32±2.91 <sup>a</sup>	123.66±1.97 <sup>b</sup>	113.51±5.87 <sup>c</sup>	***
Ca (ppm)	60.69±2.90 <sup>b</sup>	58.42±1.54 <sup>b</sup>	53.31±3.50 <sup>c</sup>	72.73±6.13 <sup>a</sup>	***
Mg (ppm)	15.99±0.33 <sup>b</sup>	14.20±0.79 <sup>c</sup>	15.53±0.27 <sup>b</sup>	20.62±0.46 <sup>a</sup>	***

<sup>a, b, c, d</sup>; aynı satırdaki farklı harflerle belirtilen ortalamalar arasında fark önemlidir (\*\*\*P< 0.001).

### TARTIşMA ve SONUÇ

Yara iyileşmesi ile iyileşmede kullanılacak ilaçlar ve materyaller son yıllarda birçok araştırıcının dikkatini çekmiştir. Diabetin yara iyileşmesinde meydana getirdiği gecikmeler ve bu gecikmeyi ortadan kaldıracak uygulamalar yeni çalışmaların konuları arasında yer almaktadır.

Yara iyileşmesinde hematolojik parametreler ve oksijenin kandaki parsiyel basıncı önemlilik arz etmektedir. Kanda bulunan alyuvar sayısının ya da alyuvardaki oksijen taşıyan hemoglobin molekülünün, hematokrit değerın ve diğer parametrelerin belirli düzeyde bulunması gerekir. Aksi takdirde dokulara yeterli miktarda oksijen gidemediğinden, metabolik fonksiyonlar yeterli düzeyde şekillenemez, pıhtılaşma faktörleri ve yara iyileşme faktörleri yeterli düzeyde sentezlenemeyip, yaralı bölgeye taşınmadığından etkinlik gösteremez. Bunun sonucunda da yara iyileşmesinde istenilen sonuçlar elde edilemeyebilir (Çınar ve Tülöbaev, 2009).

Çalışmanın bulguları, yara iyileşmesinin ilk dönemlerindeki olumsuz etkileri ortadan kaldırmak amacıyla kanın şekilli elemanlarının, vücut tarafından yaralı bölgede kullanıldığı, bunun sonucunda da hematolojik parametrelerde hafif

düzeyde bir azalmanın meydana geldiğini ancak sildenafil sitratın kanın şekilli elemanlarındaki değeriklik üzerine kısa sürede doğrudan bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

Yara iyileşmesinde oldukça önemli bir rolü olan çinko, vücutta küçük miktarlarda olması gereken bir iz elementtir. Çinko, protein ve kollajen sentezinde, doku gelişiminde ve iyileşmesinde anahtar bir rol oynar (Williams ve Barbul 2003; Langemo ve ark., 2006). Çinko eksikliği yara iyileşmesinde gecikme (Cohen ve ark., 1992), azalan deri hücreleri üretimi ve azalan yara mukavemeti ile ilişkilendirilir (Argren, 1990; Argren ve Franzen, 1990; Lansdown ve ark., 1999; Ord, 2007). Çinko, epitelizasyon ve fibroblast proliferasyonunu etkileyen RNA polimeraz, DNA polimeraz, ve DNA transkriptaz gibi metalloenzimler üzerine etkilidir (Burns ve ark., 2003). Bazı araştırıcılar, irinli yaraya sahip hastalara uygun miktarlarda vitamin C ve çinko verdiklerinde yara iyileşmesinde olumlu ilerlemeler olduğunu bildirmektedir (Hill ve ark., 2008). Ancak, çinkonun yüksek miktarlarda verilmesi ile böbrek taşı oluşma riski söz konusu olduğu için verilirken bu durumun göz önünde bulundurulmasında fayda görölmektedir (Grieger, 2009). Bu çalışmadaki serum çinko düzeyleri incelendiğinde, üçüncü grupta diğer

gruplarla karşılaştırıldığında ilk üç günde düzenli bir artışın olduğu gözlenmiştir. Bu durum yukarıdaki literatür verileriyle paralellik arz etmektedir.

Bakır yara iyileşmesinde görev yapan birçok enzimin ko-faktörü gibi önemli bir mineraldir (Doherty ve ark., 1998). Bakır eksikliği fazla çinko ilavesinden dolayı oluşabilir (Watters ve Tredget, 2002). Çalışmadaki bakır değerleri incelendiğinde 1. ve 2. gruptaki değişiklikler istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Üçüncü gruptaki bakır değerleri sıfıncı günle karşılaştırıldığında her üç günde de bir azalma meydana gelmiştir. Bu azalmanın çinko değerlerindeki artıştan dolayı olduğu düşünülmektedir.

Yapılan bir çalışmada, magnezyum hidroksitin ratlarda deri yarasının iyileşmesini hızlandırdığı ve kollagen oluşumunu uyararak doku sıkılığını arttırdığı bildirilmiştir (Alimohammad ve ark., 2007). Magnezyum ve kalsiyum doku yapışmasını, makrofajların, keratinositlerin ve fibroblastların göçünü ve tip-1 kollojen üretimini destekler (Witt ve Thornton, 2000). Çalışmadaki magnezyum değerlerindeki değişiklikler düzensiz bulunmuştur. Yara iyileşmesinin ilk günü nötrofiller, ikinci gün makrofajlar daha sonrada fibroblastlar yara bölgesine göç eder, özellikle 2. günden sonra doku formasyonunun şekillenmesi için fibroblast varlığı çok önemlidir (Cohen ve ark., 1992). Çalışmanın bulguları; kalsiyum ve magnezyum değerlerinin 3. günden başlayarak arttığını, 3. gruptaki artışın diğer gruplara göre daha belirgin olduğunu ve bu durumun da literatür bilgilerini desteklediğini göstermiştir.

Demir, kollajen sentezinde proline ve lizinin hidroksilasyonunda bir ko-faktördür. Bu olmadan normal kollajen üçlü helix mümkün değildir (Burns ve ark., 2003). Demir yara kenarına oksijen sağlayan sistemin bir parçasıdır, bu yüzden demir (hemoglobinin) eksikliği iyileşmeyi geciktirebilir. Demir eksikliği kollajen üretiminde gecikme, yaranın mukavemet gücü ve sıkılığında azalma ile sonuçlanabilir (Williams ve Barbul 2003; Edmonds, 2007; Ord, 2007). Bir çalışmada (Hugo ve ark., 1969)

yara gerginliğinin ilk altı günde azaldığı, ancak dokuz günden sonra normale döndüğü tespit edilmiştir. Demir yara iyileşmesinin erken dönemlerinde serbest radikallerin sentezini etkiler, bu da fibroblastların yara iyileşmesindeki etkisini azaltır, dolayısıyla yara iyileşmesi gecikir (Vaxman ve ark., 1996). Şiddetli anemi, azalan periferik sirkülasyon yara iyileşmesini bozabilir (Cohen ve ark., 1992). Ancak demir yedinci günden sonra yara iyileşmesi sürecinde iyileşmeyi arttırıcı etki yapar. Son çalışmalar göstermiştir ki, demir bir serbest radikal gibi hareket ederek yara iyileşmesini yavaşlatabilir. Artan serbest demir, nötrofillerden salınan reaktif oksijen türlerinde bir azalma (yaşamsal fenton reaksiyon) meydana getirir ve bu durum da dirençli yangından, kronik yaraların çevresindeki düşman pro-oksidanlara katkıda bulunan lipid peroksidasyonundan ve artan doku yıkımından sorumlu olabilir (Wenk ve ark., 2001). İlk yedi günde demir seviyesindeki artışlar iyileşme sürecine olumsuz etki yapar. Yapılan çalışmada demir değerleri incelendiğinde birinci günde artış, 2. grupta anlamlı bulunurken, diğer gruplarda anlamlı bulunmadı. Demir düzeylerindeki azalma bütün gruplarda üçüncü güne kadar devam ederken, yalnızca ikinci grupta üçüncü günde artış gözlemlendi. Ayrıca çalışmadaki hematolojik parametrelerdeki değişiklikler de demirdeki değişiklikleri destekler nitelikte bulunmuştur. Bu bulgular, sildenafil sitratın demirin diabetli yara iyileşmesinin ilk dönemlerindeki olumsuz etkisinin azaltılmasında rol oynadığı düşüncesini desteklemektedir.

Sonuç olarak, Sildenafil sitrat, diabetli yaralarda iyileşme sürecine olumlu etki eden minerallerden çinko, bakır ve magnezyum değerlerini arttırmıştır. İlk dönemlerde iyileşme sürecine olumsuz etki eden demir değerlerini düşürmüştür. Bu şekilde yara iyileşmesinin ilk dönemi olan yangısal dönemi kısaltarak, iyileşme sürecine olumlu etki yaptığı kanaatine varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

Alimohammad A., Mohammad Ali M., Mahmoud K.,

- Khadijeh S., 2007. A study of the effect of magnesium hydroxide on the wound healing process in rats. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 16, 165-170.
- Anonymous, 1988: *Viagra*, Pfizer Inc., USA.
- Argren MS., 1990. Studies on zinc in wound healing. *Acta Dermato Venereologica*, 154, (Suppl), 1-36.
- Argren MS., Franzen L., 1990. Influence of zinc deficiency on breaking strength of 3-week-old skin incisions in the rat. *Acta Chirurgica Scandinavica*, 156, 667-670.
- Brown LF., Van De Water L., Harvey VS., Duorak HF., 1988. Fibrinogen influx and accumulation of cross-linked fibrin in healing wounds and in tumor stroma. *American Journal of Pathology*, 130, 455-465.
- Burns JL., Mancoll JS., Phillips LG., 2003. Impairments to wound healing. *Clinics in Plastic Surgery*, 30, 47-56.
- Çınar A., Tülöbaev A., 2009. Uygulamalı kan fizyolojisi. *Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Yayınları* 118, Ders Kitapları Dizisi 32, Bişkek.
- Cohen IK., Diege Imann RF., Lindblad WJ., 1992. *Wound Healing: Biochemical and Clinical Aspects*. W.B. Saunders Co., Toronto, 248-73.
- Doherty CP., Sarkar MAK., Shakun MS., Ling SC., Elton RA., Cutting WA., 1998. Zinc and rehabilitation from severe protein-energy malnutrition: Higher-dose regimens are associated with increased mortality. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 742-748.
- Edmonds J., 2007. Nutrition and wound healing: putting theory into practice. *British Journal of Community Nursing*, 12, 31-44.
- Fahey TJ., Sadaty A., Jones WG., Barber A., Smoller B., Shires GT., 1991. Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing. *Journal of Surgical Research*, 50, 308-313.
- Goodson WH., Hunt TK., 1979. Wound healing and the diabetic patient. *The Journal of Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 149, 600-608.
- Grieger L., 2009. Nutrition and wound care. *Today's Dietitian*, 11, 8-12.
- Hill J., Landers P., Butcher J., Solnok H., 2008. Are wound care protocols evidence based? *Journal of the American Dietetic Association*, 108, A29.
- Hugo NE., Thompson LW., Zook EG., Bennet JE., 1969. Effect of chronic anemia on the tensile strength of healing wounds. *Surgery*, 66, 741-745.
- Jaouhari JT., Lazrek HB., Jana M., 2000. The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 69, 17-20.
- Langemo D., Anderson J., Hanson D., Hunter S., Thompson P., Posthauer ME., 2006. Nutritional considerations in wound care. *Advances in Skin & Wound Care*, 19, 297-298.
- Lansdown AB., Sampson B., Rowe A., 1999. Sequential changes in trace metal, metallothionein and calmodulin concentrations in healing skin wounds. *Journal of Anatomy*, 195, 375-386.
- Morton S., Roberts DJ., 1993. *University of Bristol Unicam AAS Methods, Manual Issue*, 2 (05/93).
- Ord H., 2007. Nutritional support for patients with infected wounds. *British Journal of Nursing*, 16, 1346-1348.
- Prakash A., Pandit PN., Sharman LK., 1974. Studies in wound healing in experimental diabetes. *International Surgery*, 59, 25-28.
- SAS 1998. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
- Stewart AG., Phan LH., Grigoriadis G., 1994. Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide. *Microsurgery*, 15, 693-699.
- Tas A., Atasoy N., Özbek H., Aslan L., Yüksel H., Ceylan E., Dağoğlu G., 2003. The effects of sildenafil citrate (*Viagra*) in the early phase of healing process in open wounds in dogs. *Acta Veterinaria Brno*, 72, 273-277.
- Vaxman F., Olender S., Lambert A., Nisand G., Granier JF., 1996. Can the wound healing

process be improved by vitamin supplementation? Experimental study on humans. *European Surgical Research*, 28, 306–314.

Wenk J., Foitzik A., Achterberg V., Sabiwalsky A., Dissemond J., Meewes C., Reitz A., Brenneisen P., Wlaschek M., Meyer-Ingold W., Scharffetter-Kochanek K., 2001. Selective pick-up of increased iron by deferoxamine-coupled cellulose abrogates the iron-driven induction of matrix-degrading metalloproteinase 1 and lipid peroxidation in human dermal fibroblasts in vitro: a new dressing concept. *Journal of Investigative Dermatology*, 116, 833–839.

Williams JZ., Barbul A., 2003. Nutrition and wound healing. *Surgical Clinics of North America*, 83, 571-596.

Witt M., Thornton F., 2000. Enhancement of fibroblast collagen synthesis by nitric oxide. *Nitric Oxide*, 4, 572-582.



## Sütçü İneklerde Ovsynch Protokolünde İkinci GnRH Uygulamasının Geciktirilmesinin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi

Birten EMRE<sup>1✉</sup>, Ömer KORKMAZ<sup>1</sup>, Abuzer Kafar ZONTURLU<sup>1</sup>

1. Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE.

**Özet:** Bu çalışmada, ineklerde Ovsynch (OVS) protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonunun geciktirilmesinin gebelik oranı üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada, toplam 40 adet primipar, Holstein-Friesian ırkı sağmal ineğe 0. günde 10 µg GnRH ve 7. günde 500 µg PGF<sub>2α</sub> uygulanarak rastgele iki gruba ayrıldı. Prostaglandin uygulamasını takiben hayvanlara (n=21), 48. saatte (OVS 48), diğer gruptaki hayvanlara (n=19) ise 56. saatte 2. GnRH enjeksiyonu yapıldı (OVS 56). Protokollerini takiben 16. saatte suni tohumlama uygulandı. Serum progesteron (P<sub>4</sub>) değerlendirilmesi amacıyla, PGF<sub>2α</sub>'nın uygulandığı 7. günde ve tohumlamalar sırasında kan örnekleri alındı. Gebelik tanısı, suni tohumlamadan sonraki 40-45. günde transrektal ultrasonografi ile tespit edildi. Gruplar arasındaki 7. gün ve tohumlama anı ortalama serum P<sub>4</sub> değerlerinin değişimi incelendiğinde, (OVS 48: sırasıyla 11.09 ± 7.60 ve 0.89 ± 1.31 ng/ml olmasına karşın, OVS 56: 6.00 ± 5.98 ve 1.10 ± 1.79 ng/ml) istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenmedi (P>0.05). Çalışmada, farklı Ovsynch programları sonucunda elde edilen gebelik oranı OVS 48 grubunda % 66.66, OVS 56 grubunda ise % 47.36 olarak belirlendi. Ancak, gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi (P>0.05). Sonuç olarak, sütçü ineklerde klasik Ovsynch protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonunun 8 saat geciktirilmesinin (48 yerine 56. saatte) gebelik oranı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Gebelik oranı, Gonadotropin-releasing hormon, Ovsynch, Sütçü İnek.

## The Effect of Delaying the Administration of Second GnRH in the Ovsynch Protocol on Pregnancy Rate in Dairy Cows

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate the effect of delaying the second GnRH injection on pregnancy rates in the Ovsynch protocol (OVS) in cows. In the study, a total of 40 primiparous, Holstein-Friesian dairy cows treated with 10 µg GnRH on day zero and 500 µg PGF<sub>2α</sub> on day 7 and the cows were then randomly divided into two groups. The 2<sup>nd</sup> GnRH injection was performed at the 48 hours in the OVS 48 (n = 21) and at the 56 hours in the OVS 56 (n = 19) after the PGF<sub>2α</sub> injection. Artificial insemination (AI) was performed 16 hours after the protocols. Blood samples were taken at day 7 and at the time of insemination to evaluate progesterone (P<sub>4</sub>). Pregnancy diagnosis was determined at 40-45<sup>th</sup> day after the AI by transrectal ultrasonography. No statistically significant differences were determined between groups for the mean serum P<sub>4</sub> values on day 7 and at the time of insemination (OVS 48: 9.11 ± 7.60 and 0.89 ± 1.31 ng/ml vs. OVS 56: 6.00 ± 5.98 and 1.10 ± 1.79 ng/ml, respectively) (P>0.05). Pregnancy rates were determined as 66.66 % in group OVS 48 and 47.36 % in group OVS 56. However, no significant difference was observed between the groups (P>0.05). In conclusion, the findings suggest that delaying the second GnRH injection for 8 hours (56<sup>th</sup> hour instead of 48<sup>th</sup> hour) in conventional Ovsynch protocol had no effect on pregnancy rate in dairy cows.

**Key words:** Dairy Cow, Gonadotropin-releasing hormone, Ovsynch, Pregnancy rate.

✉ Birten EMRE

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE.  
e-posta: birten@gmail.com

## GİRİŞ

Sütçü inek işletmelerinde, östrüs tespiti reproduktif performansı etkileyen en önemli faktörlerdendir. Östrüs tespit oranı, birçok sürüde % 50'den daha az olmaktadır (Radostits ve ark., 1994). Yetersiz ve yanlış tespit, gebelik başına tohumlama sayısı, boş geçen günler ve buzağılama aralığını artırmaktadır (Heersche ve Nebel, 1994; Senger, 1994). Sütçü sığır işletmelerinde, bu sorunları ortadan kaldırmak ve optimal fertilitenin elde edilmesi amacıyla senkronizasyon metotları geliştirilmiştir (Baumann, 1988). Bu amaçla geliştirilen senkronizasyon programlarından birisi de Ovsynch protokolüdür. Sabit zamanlı tohumlamaya olanak sağlayan Ovsynch protokolü, aşım veya tohumlama yapılmadan önce Gonadotropin-releasing hormon (GnRH), prostaglandin (PG) ve GnRH'nin ardışık olarak uygulanmasıdır (Pursley ve ark., 1995; Semacan ve Pancarcı, 2013). Tohumlamalar ikinci GnRH enjeksiyonu sonrası 0–24. saatler arasında yapılmaktadır (Pursley ve ark., 1995; Stevenson ve ark., 1996). Tohumlamaların ikinci GnRH enjeksiyonu sonrası erken dönemde (16. saat) yapılmasının başarıyı artırdığı belirtilmektedir (Pursley ve ark., 1998; Peeler ve ark., 2004). Ovsynch programının özellikle östrüs tespitinin düşük olduğu veya işgücünden tasarruf edilmesi düşünülen sürülerde yararlı olabileceği belirtilmektedir (Jemmeson, 2000; McDogual ve ark., 2001; Erdem ve Güzeloğlu, 2008).

Laktasyondaki süt ineklerinde, Ovsynch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranlarının %32 ile %76.9 aralığında değiştiği belirtilmektedir (Pursley ve ark., 1997; Aydın ve ark., 2008; Çevik ve ark., 2010; Kara ve ark., 2011; Yılmaz ve ark., 2011).

Ovulasyon senkronizasyonunu; yaş (hayvanın inek veya düve olması), laktasyon dönemi, uygulamaya başlandığında östrüs siklusunun dönemi ve ovaryum fonksiyon bozuklukları (anöstrüs, kistik ovaryum dejenerasyonu), vücut kondisyon skorunun kötü olması (2.5 ve altı) ve sıcaklık stresi gibi faktörler etkileyebilir (Pursley ve ark., 1997; Nebel ve Jobst, 1998; Moreira ve ark., 2000a).

Postpartum 70. günden önce uygulamalar da gebelik oranındaki başarıyı düşürmektedir (Pursley ve ark., 1997). Bununla beraber, Ovsynch protokolünün bir doğum yapanlarda, birden fazla doğum yapanlara göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (Tenhagen ve ark., 2004).

Literatürde, klasik Ovsynch (2. GnRH uygulaması 48. saatte yapılan enjeksiyon) protokolüne kıyasla, enjeksiyonun 8 saat geciktirilmesinin (56. saat) daha iyi sonuçlar sağladığı bildirilmiştir (Peters ve ark., 1999; Brusveen ve ark., 2008; Bisinotto ve ark., 2010). Dolayısıyla, sunulan çalışmada, süt inekçiliği ile uğraşan ve kızgınlık tespit problemi yaşayan ticari bir işletmede ekonomik kayıpları önlemek amacıyla, farklı Ovsynch protokolü uygulamasının (48. saat yerine 56. saatte yapılan 2. GnRH enjeksiyonu) ilk tohumlamadaki gebelik oranı üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Hayvan Materyali

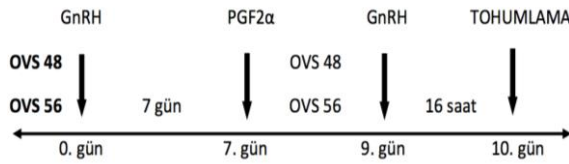
Çalışmada, materyal olarak 3 yaşında tek doğum yapmış, postpartum kontrolleri yapılan, herhangi bir puerperal dönem sorunu bulunmayan ve doğumun üzerinden en az 75 gün geçmiş (75-300. günler arası) toplam 40 baş sağmal inek kullanıldı. Hayvanların vücut kondisyon skorlarının 5'lik sisteme göre 3.0 ile 3.5 arasında değiştiği belirlendi (Rodenburg, 2004). İneklerin 305 günlük ortalama süt verimi 5.900 kg olup, sağımları günde iki defa, tam otomatik sağım sistemi ile yapılmaktaydı. Çalışma, inekler kış, bahar ve yaz aylarında yarı-açık serbest dolaşimli ahırlarda barındırılan ve günde iki kez bir örnek total rasyon karışımıyla beslenen özel bir işletmede gerçekleştirildi.

### Çalışma Dizayını

Çalışmada Ovsynch programında 0. günde 10 µg GnRH (Buserelin asetat), 7. günde 500 µg PGF<sub>2α</sub> (Kloprostenol) enjeksiyonu yapıldı. Prostaglandin

uygulaması sonrası inekler rastgele iki gruba ayrıldı. Çalışmada OVS 48 (n=21) grubundaki hayvanlara, ikinci PGF<sub>2</sub>α uygulamasını takiben 48. saatte ikinci GnRH, OVS 56 (n=19) grubundaki hayvanlara ise 56. saatte ikinci GnRH enjeksiyonu yapıldı (Şekil 1). Protokolü takiben 16. saatte suni tohumlama uygulandı. Gebelik muayeneleri tohumlamadan sonraki 40-45. günlerde transrektal ultrasonografik muayene (Pie Medical, 100 Falco Vet, 6-8 MHz Lineer prob) ile yapıldı.

**Şekil 1.** Ovsynch protokolünün uygulama şeması  
**Figure 1.** Schematic diagram of Ovsynch protocol



Çalışmada tedavi gruplarının karşılaştırılmasında fertilité parametresi olarak; ilk tohumlamada gebelik oranı (İTGO; %) hesaplanarak değerlendirildi.

#### Kan Toplanması ve Değerlendirilmesi

Tüm hayvanlardan progesteron (P<sub>4</sub>) değerlendirilmesi amacıyla, PGF<sub>2</sub>α'nın uygulandığı 7. günde ve tohumlamalar sırasında hormon değerlerinin yapılan uygulamadan nasıl etkilendiğinin belirlenebilmesi için kuyruk veninden (*V. coccygea*) 10 ml kan örnekleri alındı. Alınan örnekler oda sıcaklığında 3.000 devirde 15 dakika süre ile santrifüj edildi ve elde edilen serum örnekleri analizleri yapıncaya kadar -20 °C'de saklandı. Serum P<sub>4</sub> konsantrasyonları elektro-kimyasal immunoassay yöntemi ile ölçüldü.

#### İstatistiksel Analiz

Elde edilen bulguların istatistiksel analizi SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences, 16.0) programı kullanılarak yapıldı. İncelenen parametreler arası olası ilişkilerin araştırılmasında

Ki-kare testi kullanıldı. P (olasılık) değeri <0.05 düzeyinde önemli olarak kabul edildi.

#### BULGULAR

Çalışmada, postpartum kontrolleri yapılan herhangi bir puerperal dönem sorunu bulunmayan ve normal involusyon sürecini tamamlamış, 3 yaşlı, toplam 40 baş inek kullanıldı.

**Tablo 1.** Çalışma gruplarında gebelik oranları.

**Table 1.** Pregnancy rates in study groups.

Grup	Gebelik oranı (%)	P değeri
OVS 48	66.66 <sup>a</sup> (12/19)	P>0.05
OVS 56	47.36 <sup>a</sup> (10/21)	

(<sup>a</sup>) gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (P>0.05).

Senkronizasyon yöntemleri sonucunda elde edilen gebelik oranları değerlendirildiğinde, OVS 48 grubunda bu oran %66.66 (12/19) olarak belirlenirken, OVS 56 grubunda ise %47.36 (10/21) olarak tespit edildi (Tablo 1). Gruplarda, gebelik oranları arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu (P=0.218) gözlemlendi.

**Tablo 2.** Çalışma gruplarındaki serum progesteron düzeyleri (ng/ml).

**Table 2.** Serum progesterone levels in study groups (ng/ml).

Grup	P <sub>4</sub> (7. Gün) Ort ± Ss	P <sub>4</sub> (Tohumlama) Ort ± Ss	P değeri
OVS 48	11.09 ± 7.60	0.89 ± 1.31 <sup>a</sup>	P>0.05
OVS 56	6.00 ± 5.98	1.10 ± 1.79 <sup>a</sup>	

(<sup>a</sup>) gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (P >0.05). Ort ± Ss: Ortalama ± Standart sapma.

Çalışmada, Ovsynch senkronizasyonu uygulanan ineklerdeki ortalama serum progesteron

düzeyleri Tablo 2'de yer almaktadır. Gruplar arasındaki 7. gün ve tohumlama anı serum P<sub>4</sub> değerleri incelendiğinde, OVS 48 yöntemi uygulanan grupta 7. gün ve tohumlama anı ortalama serum P<sub>4</sub> değerleri sırasıyla 11.09 ± 7.60 ve 0.89 ± 1.31 ng/ml iken, OVS 56 grubunda bu değerler sırasıyla 6.00 ± 5.98 ve 1.10 ± 1.79 ng/ml olarak kaydedildi. Serum P<sub>4</sub> düzeyi, suni tohumlama sırasında OVS 48 grubunda daha düşük düzeyde tespit edilmiş olup, gruplar arasında serum P<sub>4</sub> değerleri yönünden istatistiksel olarak önemli bir ilişki belirlenemedi (P>0.05).

### TARTIŞMA ve SONUÇ

İneklerde, östrus tespiti ve uygun tohumlama zamanının belirlenmesi reproduktif verimliliği etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Yetersiz ve yanlış tespit tohumlama sayısını, boş geçen günleri ve buzağılama aralığını artırmaktadır. Bu sorunları ortadan kaldırılması ve fertilitenin artırılması amacıyla sabit-zamanlı tohumlama yapmaya olanak sağlayan yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla geliştirilen Ovsynch protokolü sütçü inek işletmelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ovsynch programının, özellikle östrus tespitinin düşük olduğu ve/veya işgücünden tasarruf edilmesi düşünülen sürülerde yararlı olabileceği belirtilmektedir (Jemmeson, 2000; McDogual ve ark., 2001; Erdem ve Güzeloğlu, 2008). Laktasyondaki süt ineklerinde, Ovsynch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranlarının %32 ile %76.9 aralığında değiştiği belirtilmektedir (Pursley ve ark. 1997; Aydın ve ark., 2008; Çevik ve ark., 2010; Kara ve ark., 2011; Yılmaz ve ark., 2011). Sonuçların bu kadar geniş bir aralıkta olması; yaş, postpartum gün, laktasyon dönemi, uygulamaya başlandığında östrus siklusunun dönemi, ovaryum fonksiyon bozuklukları, vücut kondisyon skoru ve ısı stresi gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır (Pursley ve ark., 1997; Nebel ve Jobst, 1998). Sunulan çalışmada, klasik Ovsynch yöntemi olan OVS 48 grubunda gebelik oranı %66.66 olarak belirlendi. Bu oran, çoğu araştırmacının bildirdiğinden daha yüksektir (Pursley ve ark., 1997;

Aydın ve ark., 2008; Doğruer ve ark., 2010). Çalışmamızda, daha yüksek gebelik sonuçları elde edilmesinin sebebinin, materyal olarak bir doğum yapmış ineklerin kullanılmasından (Peters ve Pursley, 2002; Navanukraw ve ark., 2004) kaynaklanmış olabileceği düşünüldü. Bu durum, literatürde primipar hayvanlarda erken laktasyon döneminde metabolik problemlerle karşılaşılma riskinin daha düşük olması ile açıklanmıştır (Stevenson ve ark., 1996; Peters ve Pursley, 2002; Tenhagen ve ark., 2004). Bununla birlikte, postpartum gün, suni tohumlama zamanı, mevsim ve bölge (Pursley ve ark., 1998), işletmeler arasındaki besleme ve idare koşulları gibi birçok faktörün bu oran üzerinde etkili olabileceği düşünüldü.

İneklerde yapılan önceki çalışmalarda, uygulanan OVS 56 protokolüne göre ilk suni tohumlamada değişik oranlarda gebelikler elde edilmiştir. Brusveen ve ark. (2008), farklı senkronizasyon yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında OVS 56 grubunda gebelik oranını %38.6 olarak belirlemişlerdir. Bufalolarda yapılan benzer bir çalışmada, OVS 48 ve OVS 56'da gebelik oranları sırasıyla % 50.8 ve % 50.7 olarak belirlenmiş olup, önemli bir farklılık belirlenmemiştir (Carvalho ve ark., 2010). Bununla birlikte, farklı senkronizasyon yöntemlerinin yer aldığı çalışmalarda, OVS 56 protokolünün daha iyi avantaj sağladığını belirten sonuçlar da bulunmaktadır (Peters ve ark., 1999; Brusveen ve ark., 2008; Bisinotto ve ark., 2010). Ovsynch ile resenkronizasyon yapılan diğer bir çalışmada da OVS 56 grubunda (%32), OVS 48 protokolüne (%22) göre daha yüksek oranda gebelik oranı belirlenmiştir (Bahrami ve ark., 2012). Sunulan bu çalışmada ise istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı bir fark belirlenmemiş olup, OVS 56 grubunda daha düşük oranda gebelik elde edilmiştir. Grupların kendi içinde farklılığın başlamadığı, aynı uygulamaların yapıldığı 7. gündeki serum P<sub>4</sub> düzeylerine bakıldığında OVS 48 grubunda çok daha yüksek olduğu (11.09 ± 7.60 ile 6.00 ± 5.98 ng/ml)



görülmektedir. Bu sonuç, uygulanmakta olan PGF<sub>2α</sub>'ya karşı daha duyarlı luteal yapının varlığının göstergesi olarak düşünülebilir. Diğer araştırmacılarının aksine, gebelik oranının OVS 48 uygulamasında daha yüksek çıkmasının sebebi, rastgele seçilen guruptaki hayvanların OVS 48 grubunda 7. günde daha uygun luteal yapıya ulaşmalarının sebep olduğu kanaatindeyiz.

Ovsynch protokolü uygulamasının avantajlarına rağmen bazı ineklerde luteal regresyonun gerçekleşmediği ve kan hormon konsantrasyonunun protokol esnasında ideal seviyelerde olmadığı bildirilmektedir (Moreira ve ark., 2000b; Souza ve ark., 2007). Özellikle suni tohumlama zamanında kan dolaşımındaki yüksek P<sub>4</sub> değerinin reproduktif kanalda sperma ve ovum transportu için uygun olmayan çevresel koşullara yol açarak fertilitite düşüklüğüne neden olduğu bildirilmektedir (Moreira ve ark., 2000b). Ovsynch uygulamasında tohumlamadan 16 saat önce, ikinci GnRH uygulandığı zaman, kan P<sub>4</sub> değerlerinin bakıldığı bir çalışmada düşük seviyedeki P<sub>4</sub> seviyelerinin oluşturduğu gurupta (0.4 ng/ml'den az), yüksek kan P<sub>4</sub> seviyelerindeki gruptan (0.9 ng/ml'den fazla) daha iyi fertilitite sonuçları elde edildiği belirtilmektedir (Brusveen ve ark., 2009). Yılmazbaş-Mecitoğlu ve ark. (2013), çalışmalarında, Ovsynch protokolünde en düşük serum P<sub>4</sub> değerlerini tohumlama anında bulduklarını kaydetmektedirler. Bu çalışmada da benzer olarak, tohumlama sırasında (OVS 48 grubunda 0.89 ± 1.31 ile OVS 56 grubunda 1.10 ± 1.79 ng/ml) 7. güne nazaran (OVS 48 grubunda 11.09 ± 7.60 ile OVS 56 grubunda serum P<sub>4</sub> değerlerinin daha düşük (6.00 ± 5.98 ng/ml) olduğu görülmektedir. Tohumlama anında, P<sub>4</sub> değeri daha düşük olan OVS 48 grubunda, gebelik oranları bakımından istatistiksel olarak fark çıkmasa da, gebelik oranının daha yüksek (% 66.66 ile % 47.36) olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, östrus takip problemi yaşayan işletmelerde iş yoğunluğunu hafifletmek ve fertilitiyi arttırmak amacıyla Ovsynch protokolünün yararlı olabileceği gözlemlendi. İneklerde, Ovsynch

protokolünde ikinci GnRH uygulamasının geciktirilmesinin bir avantajı belirlenemedi. Bununla birlikte, farklı Ovsynch protokollerinin etkinliğinin belirlenebilmesi için daha fazla sayıda hayvanın kullanıldığı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünüldü.

#### KAYNAKLAR

- Aydın İ., Aköz M., Dinç DA., 2008. Postpartum dönemdeki süt ineklerinde modifiye edilmiş Ovsynch protokolünün ovulatör follikül gelişimi ve gebelik oranı üzerine etkisi. III. Veteriner Jinekoloji Kongresi, 23-26 Ekim, Antalya.
- Bahrami A., Mosaferi S., Hamali H., Ostadi Z., 2012. Comparative study of resynchronization conception rate based on Ovsynch 48 and 56 hour in dairy cow. *Research Journal of Biological Sciences*, 7, 175-180.
- Baumann LE., 1988. Monitoring and predicting reproductive performance in dairy herds. Vol I and II. *Dissertation Abstracts International, B-Sciences and Engineering*, 49, 1049.
- Bisinotto RS., Ribeiro ES., Martins LT., Marsola RS., Greco LF., Favoreto MG., Risco CA., Thatcher WW., Santos JEP., 2010. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. *Journal of Dairy Science*, 93, 5798-5808.
- Brusveen DJ., Cunha AP., Silva CD., Cunha PM., Sterry RA., Silva EP., Guenther JN., Wiltbank MC., 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1044-1052.
- Brusveen DJ., Souza AH., Wiltbank MC., 2009. Effects of additional prostaglandin F<sub>2α</sub> and estradiol-17β during Ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 1412-1422.
- Carvalho NAT., Gimenes LU., Soares JG., Souza DC., Vannucci FS., Maio JRG., Baruselli PS., 2010.

- Delay of the last GnRH administration at the Ovsynch protocol in buffaloes. *Revista Veterinaria*, 21, 179.
- Çevik M., Selçuk M., Doğan S., 2010. Comparison of pregnancy rates after timed artificial insemination in Ovsynch, Heatsynch and CIDR-Based synchronization protocol in dairy cows. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 16, 85-89.
- Dogruev G., Saribay MK., Karaca F., Ergun Y., 2010. The comparison of the pregnancy rates obtained after the Ovsynch and double dose PGF<sub>2</sub>α + GnRH applications in lactating dairy cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 809-813.
- Erdem H., Güzeloğlu A., 2008. Holstein ırkı düvelerde sabit zamanlı tohumlama amacıyla iki farklı östrus ve senkronizasyon yönteminin değerlendirilmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 24, 7-13.
- Heersche G., Nebel RL., 1994. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *Journal of Dairy Science*, 77, 2754–2761.
- Jemmeson A., 2000. Synchronising ovulation in dairy cows with either two treatments of gonadotropin-releasing hormone and one of prostaglandin, or two treatments of prostaglandin. *Australian Veterinary Journal*, 78, 108–111.
- Kara U., Ayaşan T., Hızlı H., Gök K., 2011. Effect of Ovsynch protocol on pregnancy rate in heifers and cows. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University*, 8, 1-8.
- McDougall S., Cullum AA., Anniss FM., FM Rhodes., 2001. Treatment of anovulatory anoestrous postpartum dairy cows with a gonadotropin-releasing hormone (GnRH), prostaglandin F<sub>2</sub>α, GnRH regimen or with progesterone and oestradiol benzoate. *The New Zealand Veterinary Journal*, 49, 168-172.
- Moreira F., Risco C., Pires MFA., Ambrose JD., Drost M., DeLorenzo M., and Thatcher WW., 2000a. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology*, 53, 1305-1319.
- Moreira F., Risco CA., Pires MFA., Ambrose JD., Drost M., Thatcher WW., 2000b. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, 83, 1237–1247.
- Navanukraw C., Redmer DA., Reynolds LP., Kirsch JD., Grazul-Bilska AT., Fricke PM., 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 1551-1557.
- Nebel RL., Jobst SM., 1998. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: A review. *Journal of Dairy Science*, 81, 1169–1174.
- Peeler ID., Nebel RL., Pearson RE., Swecker WS., Garcia A., 2004. Pregnancy rates after timed AI of heifers following removal of intravaginal progesterone inserts. *Journal of Dairy Science*, 87, 2868–2873.
- Peters AR., Mawhinney I., Drew SB., Ward SJ., Warren MJ., Gordon PJ., 1999. Development of a gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows. *Veterinary Record*, 145, 516–521.
- Peters MW., Pursley JR., 2002. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF<sub>2</sub>α and GnRH. *Journal of Dairy Science*, 85, 2403-2406.
- Pursley JR., Mee MO., Wiltbank MC., 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub>α and GnRH. *Theriogenology*, 44, 915-923.
- Pursley JR., Silcox RW., Wiltbank MC., 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 2139–2144.

- Pursley JR., Wiltbank MC., Stevenson JS., Ottobre JS., Garverick HA., Anderson LL., 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *Journal of Dairy Science*, 80, 295-300.
- Radostits OM., Leslieand KE., Fetrow J., 1994. *Herd Health-Food Animal Production Medicine*. 2<sup>nd</sup> ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA.
- Rodenburg J., 2004. Body condition scoring of dairy cattle. 109, *Omafra Factsheets*.
- Semacan A., Pancarcı ŞM., 2013. Üremenin denetlenmesi. In: "Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji", Ed., A Semacan, M Kaymaz, M Fındık, A Rışvanlı, A Köker, 99-124, Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya.
- Senger PL., 1994. The estrus detection problem: New concepts, technologies and possibilities. *Journal of Dairy Science*, 77, 2745–2753.
- Souza AH., Gumen A., Silva EPB., Cunha AP., Guenther JN., Peto CM., Caraviello DZ., Wiltbank MC., 2007. Supplementation with estradiol-17 $\beta$  before the last GnRH of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 4623–4634.
- Stevenson JS., Kobayashi Y., Shipa MP., Rauchholz KC., 1996. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F $_{2\alpha}$ . *Journal of Dairy Science*, 79, 402–410.
- Tenhagen BA., Surholt R., Wittke M., Vogel C., Drillich M., Heuwieser W., 2004. Use of Ovsynch in dairy herds-differences between primiparous and multiparous cows. *Animal Reproduction Science*, 81, 1–11.
- Yılmaz C., Yılmaz O., Ucar M., 2011. Effect of PGF $_{2\alpha}$  and GnRH injections applied before Ovsynch on pregnancy rates in cows and heifers. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 17, 641-644.
- Yılmazbas-Mecitoglu G., Karakaya E., Keskin A., Alkan A., Gumen A., 2013. Reducing the duration between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin F $_{2\alpha}$  treatment in the Ovsynch protocol to 6 days improved ovulation to second GnRH treatment, but inclined to reduce fertility. *Journal of Dairy Science*, 96, 3817–3824.



## Shar-pei Irkı Bir Köpekte Kutanöz Musinozis ve Mastositozis\*

Ekrem Çağatay ÇOLAKOĞLU<sup>1✉</sup>, Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU<sup>2</sup>, Hadi ALİHOSSEİNİ<sup>1</sup>

1. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.
2. Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aksaray, TÜRKİYE.

**Özet:** Kutanöz Musinozis jelatin benzeri mürinin patolojik olarak deride biriktiği bir grup hastalığı ifade etmektedir. 5 yaşlı Shar-pei ırkı bir köpek Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesine tekrarlayan dermatolojik problemler (deride asemptomatik bullöz lezyonlar ve eritemli alanlar) ile getirilmiştir. Diff-Quick'le boyanan bullöz materyal aspiratı ve periferik kan frotilerinde şiddetli Mastositozis tespit edilmiştir. Etkilenmiş deri bölgelerinden alınan biyopsi örnekleri ile idiyopatik kutanöz mürinözis tanısı konulmuş, metilprednisolon asetat enjeksiyonu ve sefaleksim uygulanmıştır. 2 yıldır takibi yapılan hasta halen remisyonunda seyretmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kutanöz musinözis, Mürin, Shar-pei.

## Cutaneous Mucinosis and Mastocytosis in a Shar-pei Breed Dog

**Abstract:** The cutaneous mucinosis is a group of disorders having abnormal accumulation of jelly-like mucin in the skin. A 5 year old, shar-pei breed dog referred to Veterinary Teaching Hospital with the complaints of recurrent dermatologic conditions (including asymptomatic numerous bullae and erythema on the skin). Peripheral blood smear and aspiration smear of bullous material stained with Diff-Quick revealed severe mastocytosis. Idiopathic mucinosis was confirmed with biopsies taken from the affected skin. Methylprednisolone acetate and cephalexin were initiated. Any deterioration occurred during 2 year follow-up.

**Key words:** Cutaneous mucinosis, Mucin, Shar-pei.

✉ Ekrem Çağatay ÇOLAKOĞLU

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.  
e-posta: colakoglu@ankara.edu.tr

\* Bu olgu sunumu; IX. Veteriner İç Hastalıkları Kongresi Bilimsel Komitesince (Antalya, 2011) Poster sunumu olarak kabul edilmiştir.

## GİRİŞ

**D**ermis, kollejen, elastik fiberler, damar ve deri ekleri içererek, dermal substans ya da dermal müsün olarak adlandırılan asit mukopolisakarit protein kompleksi (hyaluronik asit, kondroitin sülfat B) içerisine gömülü olarak bulunmaktadır. Dermis içerisinde aşırı müsün ya da dermal substans artışı müsünöz dejenerasyon, miksödem ya da kutanöz müsünöz olarak isimlendirilmektedir. Dermiste aşırı müsün birikimi; lokal, generalize, primer (idiyopatik) ve sekonder olarak oluşabilmektedir (Muller ve Kirk, 2001). Sekonder kutanöz müsünözis köpek ve insanlarda hipotroidizm, akromegali, müsünöz alopesi, dermatomyozitis, mast hücre tümörü ve diskoid lupus eritematozis nedenli şekillenebilmektedir (Dillberger ve Altman, 1986). Günümüzde Kutanöz Musinozis' te sağaltım yaklaşımları, hastalığın görülme sıklığının azlığı nedeniyle olgu bildirimleri ile sınırlıdır. Bu olgu sunumuyla, kortikosteroid sağaltımına cevap veren Kutanöz Müsünözis'e dikkat çekmek amaçlanmıştır.

## OLGU SUNUMU

Profesyonel diyetle beslenen, 5 yaşlı, erkek, Shar-pei ırkı bir köpek Hayvan Hastanesine; tedaviye yanıt vermeyen ve 1 aydır devam eden dermatolojik problemler ile getirildi. Deri lezyonlarının düzenli aralıklarla tekrarlayan kaşıntıdan daha önce oluştuğu öğrenildi. Yapılan dermatolojik muayenede; perianal ve aksillar bölgelerde lokalize, yüzeyden kabarık, içi yapışkan infiltrat ile kaplı, eritemli büllöz lezyonlar izlendi (Şekil 1-2). Etkilenmiş bölgelerde; deri kalınlığının arttığı ve bazı büllöz lezyonların epidermal koleret şeklinde yayılım gösterdiği görüldü (Şekil 3).

Tam kan ve serum biyokimyasal analizleri ile troid fonksiyon testlerinde belirgin bir anormalliğe rastlanmadı. Deri kazıntısı ve dışkı muayenelerinde patojene rastlanmayan hastada, büllöz lezyon içeriği kültür sonuçlarında da herhangi bir etken belirlenmedi. Diff Quick ile boyanan periferik kan frotilerinde yoğun eozonofili, büllöz lezyon aspiratlarında ise mastositosis dikkati çekti.



**Şekil 1.** Perianal bölgede büllöz lezyonlar.  
**Figure 1.** Perianal bullous lesions.

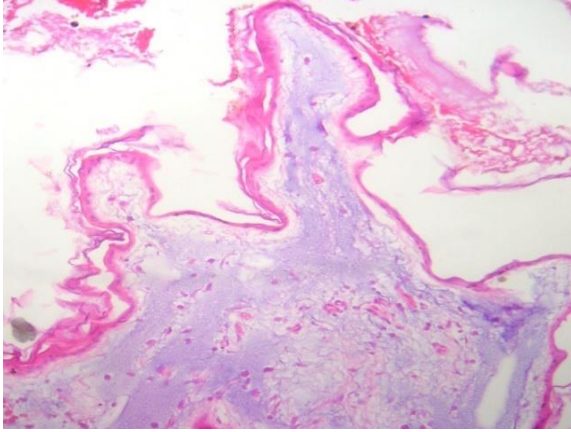


**Şekil 2.** Aksillar bölgede büllöz lezyonlar.  
**Figure 2.** Axillary bullous lesions.



**Şekil 3.** Belirgin epidermal koleret oluşumları.  
**Figure 3.** Marked epidermal collarette formation.

Lezyonlardan alınan punch biyopsi örneklerinin (3 mm) histopatolojik incelemesinde; çok katlı yassı epitelyum ile örtölü dokuda, epitelyum altı stromada, interstisyel alanda, artmış kollajen demetleri arasına sızmış müsinoz madde ve makrofajlar tespit edilerek hastaya Kutanöz Musinozis tanısı konuldu (Şekil 4).



**Şekil 4.** Artmış kollejen içinde müsinoz birikimi, H&E, x 100.

**Figure 4.** Presence of mucin among the collagen fibers, H&E, x 100.

Sağaltımda; Metilprednisolon asetat 3 hafta arayla, 1 mg/kg dozunda IM ve Sefaleksim 12 saat arayla, 25 mg/kg dozunda P.O. 14 gün BID uygulandı. Semptomların klinik seyri ve hastanın kaşıntı varlığına göre Metilprednisolon asetat uygulamalarına aralıklarla devam edildi. 2 yıldır takip edilen olgu halen remisyonda seyretmektedir.

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

Kollajen ve elastik fiberler, damarlar ve deri eklerinin arasını dolduran Müsin; yaşla birlikte azalmasına rağmen dermisin normal bir komponentidir (Lever ve Schaumberg, 1975; Hashimoto ve Niizuma, 1983). Kutanöz müsinozlerin sınıflandırmasında kabul edilmiş net bir görüş bulunmamaktadır (Türk ve ark., 2009). Kutanöz müsinozis insanlarda, kollajen fiberlerinde yıkım ve ayrılmaya neden olan dermiste aşırı müsinoz birikimi ile karakterizedir (Lever ve Schaumberg, 1975). Shar-pei ırkı köpeklerde yaygın olarak görülen dermisteki bu birikim bazı yazarlar tarafından (Yager

ve ark., 1994) normal olarak ifade edilirken, kimi yazarlar tarafından ise idiyopatik olarak isimlendirilmiştir (Bomhard ve Kraft, 1998). Aşırı müsinoz normal görünümdeki kollajen ve elastik fiberler arasına sızarak, kollajen yapılarında ayrılma ve dejenerasyon meydana getirmekte ve tüm kutanöz müsinoz formlarında benzer histopatolojik değişiklikler şekillendirmektedir (Shapiro ve ark., 1970). Primer kutanöz müsinoz sınıflandırması içerisinde yer alan generalize miksödem ile ilgili olarak, hipotroidili köpek ve insanlarda bildirimler bulunmaktadır (Schaeffer ve ark., 1983). Olgumuzda ise troid analizleriyle ilgili veriler referans sınırlar içerisinde bulunmuştur.

Mastositozis; dokuda mast hücrelerinin anormal akümüasyonu ile karakterize reaktif ya da neoplastik olabilen hastalık tablosunu ifade etmekte ve sistemik ya da lokalize (kutanöz mastositozis) olabilmektedir. Reaktif mastositozis parazitizm sonucu oluşan immun reaksiyon nedeni şekillenebilmektedir. Olgumuzda periferik kan frotilerinde mastositozis varlığı bunu düşündürse de; kan preparatları, dışkı muayeneleri ve deri kazıntılarında herhangi bir paraziter etkene rastlanmamıştır. Shar-pei'lerin de dahil olduğu köpeklerde ekstremiteler, aksillar ve perianal bölgeler malignan mast hücre tümörlerinin daha çok lokalize oldukları bölgelerdir (Türk ve ark., 2009). Metastatik özellikteki mast hücre tümörlerinde bir çok vakada ilk belirti lenfadenopati olmakta, periferik kan frotilerinde ise nadiren mastositozis görülmektedir. Olgumuzda kan frotilerinde yoğun eozinofili bulunmasına rağmen 2 yılı aşkın süredir takibi yapılan hastada lenfadenopati görülmemiştir. Kutanöz müsinoz tanısı konan bir hastada 2 yıl içinde mast hücre tümörü gelişiminin şekillendiği literatür verileri desteklenmektedir (Lopez ve ark., 1999). Bu açıdan kutanöz musinosiz mast hücre tümörünün ön bulgusu olabilmektedir. 2 yılı aşkın süredir takip edilen olgumuzda mast hücre tümörü gelişimi şekillenmemiştir. Büllöz aspiratlarda mast hücrelerine rastlanmasına rağmen, punch biyopsi histopatolojilerinde ise mast hücre tümörü ile karşılaşılması. Primer idiyopatik kutanöz

müsinöz tanısı konan olgumuzda kutanöz mastositozisin de görülmesi bu vakayı ilginç kılmaktadır. Madewell ve ark. (1992) benzer bir bildirimini shar-pei ırkı bir köpekte yapmışlar, kutanöz musinosiz ve mastositozu aynı olguda rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak; Kutanöz musinosiz Hekimi oldukça zorlayan bir hastalıktır.  nk  hastalığın ilişkili olduğu sekonder durumlar ve tedavisi ile ilgili literatür bilgiler olgu bildirileri ve serileri ile sınırlıdır.

#### KAYNAKLAR

- Bombhard D., Kraft W., 1998. Idiopathic mucinosis cutis in Chinese shar pei dogs: Epidemiology, clinical features, histopathologic findings and treatment. *Tierarztl Prax Ausg K Klientiere Heimtiere*, 26, 189-196.
- Dillberger JE., Altman NH., 1986. Focal mucinosis in dogs: seven cases and review of cutaneous mucinoses of man and animals. *Veterinary Pathology*, 23, 132-139.
- Hashimoto K., Niizuma K., 1983. *Skin pathology by light and electron microscopy*. 1st ed., 33, Igaku-Shoin, New York.
- Lever WF., Schaumburg G., 1975. *Histopathology of the Skin*, 1st ed., 404, JB Lippincott Company, Philadelphia.
- Lopez A., Spracklin D., McConkey S., Hanna P., 1999. Cutaneous mucinosis and mastocytosis in a shar-pei. *Canadian Veterinary Journal*, 40, 881-883.
- Madewell BR., Akita GY., Vogel P., 1992. Cutaneous mastocytosis and mucinosis with gross deformity in a Shar-pei dog. *Veterinary Dermatology*, 3, 171-175.
- Muller GH., Kirk RW., 2001. *Small Animal Dermatology*. 1st ed., Saunders., Philadelphia.
- Schaeffer D., Bruce S., Rosen T., 1983. Cutaneous mucinosis associated with thyroid dysfunction. *Cutis*, 32, 449, 1983.
- Shapiro CM., Fretzin D., Norris S., 1970. Papular mucinosis. *The journal of the American Medical Association*, 214, 2052.
- Türk BG., Ertekin B., Sezgin A ., Kazandı AC., Dereli T.,  zdemir F., 2010. Skleromiks dem tedavisinde sistemik steroidin hızlı etkinliği. *Ege Tıp Dergisi*, 49, 201-203.
- Yager JA., Wilcock BP., 1994. *Surgical pathology of the dog and cat: Dermatopathology and skin tumors*. 1st ed., 30-38, Mosby, London.



## Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ataunivbd>

### Kök Hücre ve Veteriner Hekimlikte Uygulama Alanları

Orçun CANNAZİK<sup>1✉</sup>, Bülent POLAT<sup>1</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

**Özet:** Kök hücre tedavisi, tıp ve veteriner hekimliğinde son yıllarda önem kazanmış bir konudur. Kök hücrelerin; totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere üç türü bulunmaktadır. Kök hücreler; embriyonik kök hücreler (EKH) ve embriyonik olmayan kök hücreler veya erişkin tip kök hücreler (ETKH) olarak ikiye ayrılırlar. Embriyonik kök hücreler blastosist'in iç hücre kitlesinden elde edilirken; ETKH kemik iliği, periferik kan, adipoz doku, deri, kalp kası, nöronlar, amniotik sıvı, göbek kordonu ve uterus gibi birçok farklı organ veya dokudan elde edilebilirler. Elde edilen bu kök hücreler; allojenik, otolog, sinjeneik ve kordon kanı şeklinde istenilen dokulara nakledilebilirler. Sunulan derlemede, kök hücrelerin kaynağı, elde edilmesi, transferi ve bunların veteriner hekimlikte kullanımı hakkında genel bilgi verilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kök hücre, Veteriner hekimlikte kullanımı.

### Stem Cells and Their Use in Veterinary Medicine

**Abstract:** Stem cell therapy is an issue, which has recently gained importance in veterinary and human medicine. Three types of stem cells are presented as totipotent, pluripotent and multipotent. These cells are divided into two groups as embryonic and non-embryonic or adult type stem cells. While embryonic stem cells are obtained from the inner cell mass of blastocysts, adult type stem cells are derived from various tissues and organs such as bone marrow, peripheral blood, adipose tissue, skin, cardiac muscle, neurons, amniotic fluid, umbilical cord, and uterus. The stem cells can be transferred to the target tissues as allogeneic, autologous, syngeneic, and umbilical cord blood methods. In the present review, general information about the source, isolation and transfer methods of stem cells and their use in veterinary medicine are given.

**Key words:** Stem cell, Use in Veterinary Medicine.

✉ Orçun CANNAZİK

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.  
e-posta: ocannazik@atauni.edu.tr



## GİRİŞ

**K**ök hücreler; elde edildiği bölgedeki hücelere veya başka hücelere dönüşebilen, farklılaşmamış, kendi kendine yenilenme, çoğalma ve farklılaşma özelliklerine sahip hücrelerdir. Bu tip hücreler birçok dokuda bulunmaktadır ve buldukları dokularda bozulmuş hücrelerin yenilenmesinden sorumludurlar (Schatten, 2007). Bu hücrelerin dokuya has özellikleri yoktur, özelleşmemişlerdir ve uygun bir sinyalle karşılaşmadıkları sürece farklılaşmazlar (Küstü, 2008). Kök hücrenin hangi hücreye farklılaşacağını hücre çekirdeğinde bulunan genler kontrol ederler. Bu genlerden çıkan sinyallere göre değişik hücre tiplerine dönüşebilmektedirler (Güneş, 2012).

Bir hücreyi kök hücre olarak tanımlamak için 5 kriter belirlenmiştir (Erol ve Arıcan, 2008; Ural, 2006);

1. Uzun zaman bölünebilme ve kendini yenileyebilme kapasitesine sahiptirler,
2. Özelleşmemişlerdir,
3. Özelleşmiş hücelere dönüşebilmektedirler,
4. Hasar gören dokuya nakledildiklerinde kaynak dokuyu işlevsel olarak yeniden çoğaltabilmektedirler,
5. *In vivo* ortamda doku hasarının olmadığı durumlarda bile farklılaşmış kuşaklara destek sağlamaktadırlar.

## 1. KÖK HÜCRELERİN ÖZELLİKLERİ

### 1.1. Bölünme ve Kendini Yenileme

Kök hücreler, buldukları dokuda onarım için hücreye ihtiyaç duyuluncaya kadar özelleşmeden bölünebilme yeteneğine sahiptirler (Erol ve Arıcan, 2008). Kök hücrelerin bölünme kapasitesini belirleyen faktörler telomeraz enzim aktivitesi ve telomerlerin uzunluğudur. Kök hücrelerde telomeraz aktivitesi fazla olduğundan uzun telomer zincirleri bulunur. Bu nedenle kök hücreler sınırsız bölünmeyle kendilerini kopyalarlar (İnan ve Özbilgin, 2009).

### 1.2. Kök Hücrelerin Farklılaşması

Bir dokudan elde edilen kök hücrelerin, uygun

ortam şartları ve uyarılarla farklı doku hücrelerine dönüşebilmesi "*plastisite*" (transdiferansiyasyon) olarak tanımlanır (İnan ve Özbilgin, 2009). Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilmektedir. Genel olarak üç tür kök hücre vardır. Bunlar; totipotent, pluripotent ve multipotent kök hücrelerdir (Koerner ve ark., 2006).

**Totipotent Kök Hücre;** sınırsız farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme özelliğinde olan kök hücrelerdir (Erbey, 2008). Memelilerde, zigottan itibaren embriyonun erken gelişim evreleri de dahil morula safhasına kadar gelişen hücreler tam bir organizmayı şekillendirme yeteneğindeki totipotent hücelere örnektir (Erol ve Arıcan, 2008).

**Pluripotent Kök Hücre;** fertilizasyon sonrası, pre-implantasyon döneminde, beşinci günde oluşan blastosist evresindeki embriyonun iç hücre kitlesinden elde edilen, tüm germ dizisine (endoderm-ektoderm-mezoderm) ait dokuları oluşturabilme kapasitesinde olan hücrelerdir. Bu hücreler vücuttaki bütün dokulara ve gebeliği destekleyen hücelere kaynaklık edebilmelerine karşın, yeni bir birey oluşturma yeteneğine sahip değildirler (Koerner ve ark., 2006; Ural, 2006).

**Multipotent Kök Hücre;** gelişmenin daha ileri evresine ait hücrelerdir ve özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilirler. Özellikle kordon kanı, kemik iliği ve yağ dokusundan elde edilen kök hücreler multipotent hücrelerdir. Pluripotent ya da multipotent kök hücreler daha sonra belirli hücre dizilerine farklılaşacak olan ata hücreleri oluşturmaktadırlar (Erol ve Arıcan, 2008; Küstü, 2008; İnan ve Özbilgin, 2009).

### 1.3. Kök Hücrelerin İşlevi

Kök hücrelerin hasar gören dokuya nakledilmesiyle kaynak dokuyu işlevsel olarak yeniden çoğaltabilmesi yaygın olarak hematopoietik (bütün kan hücre serilerine dönüşebilme yeteneğindeki kan hücreleri) kök hücrelerde, karaciğer ve sinir kök

hücrelerinde görülmektedir. Örneğin; kemik iliği stromal hücreleri hasarlı kalp dokusuna enjekte edildiğinde bu hücreler kardiyomiyositlere dönüşmekte böylece hasarlı dokuyu onarabilmektedirler (Kruse ve ark., 2008).

## 2. KÖK HÜCRE TİPLERİ

Kök hücreler başlıca; Embriyonik Kök Hücre (EKH) ve Embriyonik Olmayan veya Erişkin Tip Kök Hücreler (ETKH) olarak iki gruba ayrılırlar (Erol ve Arıcan, 2008; Küstü, 2008; İnan ve Özbilgin, 2009; Güneş, 2012).

### 2.1. Embriyonik Kök Hücreler

Konsepsiyon sonrasında oluşan fertilize oosit, yani zigotun blastomer isimli bölünebilen hücrelerini içermektedir. Bu hücreler totipotent özelliktedirler. Yani bir organizmayı tümüyle yapabilecek potansiyele sahiptirler (Güneş, 2012).

Döllenmeden 4-5 gün sonra ise bu totipotent hücreler daha özelleşerek blastosistin, Inner Cell Mass (ICM) olarak adlandırılan iç hücre tabakasından elde edilen ve kültür ortamında üretilen hücrelere dönüşürler. Bu hücreler kültür ortamlarında, farklılaşmadan 1-2 yıl üremelerini sürdürebilirler (Küstü, 2008; Güneş, 2012).

Embriyonik kök hücrenin erişkin tip kök hücreden farklı özellikleri vardır. Bunlardan biri; pluripotent özellikte hücreler olmalarıdır. Farklılaşma potansiyelleri erişkin tip kök hücreden daha fazladır. Embriyonik kök hücrelerin telomerleri uzun olduğu için çoğalma kapasiteleri çok fazladır ve uzun süre çoğalabilirler (Güneş, 2012).

Embriyonik kök hücrelerin yaygın olarak kullanıldığı hastalıklar; diyabet, merkezi sinir sistemi (MSS) hastalıkları, karaciğer hastalıkları ve transplantasyonu, kalp hastalıkları ve transplantasyonudur (Kruse ve ark., 2008).

### 2.2. Erişkin Tip Kök Hücreler

Erişkin farklılaşmış bir dokuda bulunan, farklılaşmamış hücre grubudur (Ural, 2006). Organizma yaşadığı sürece kendi kopyalarını üreterek, buldukları dokuda bir hasar olduğunda doku

rejenerasyonunu sağlarlar. Erişkin tip kök hücreler multipotenttir (Güneş, 2012). Kendilerini yenileme potansiyeli olan bu hücreler, kaynaklandıkları dokunun özelleşmiş hücre tiplerini oluşturdukları gibi başka dokuların hücrelerine de dönüşebilirler (Küstü, 2008). Erişkin tip kan kök hücresinden sinir, kas ve karaciğer hücreleri elde edilebilir. Beyin kök hücresinden de kan ve kas hücreleri oluşturulabilir. Erişkin kaynaklı kök hücreler her dokudan elde edilemezler. Şu ana kadar sadece beyin, kas, kemik iliği, deri, diş, sindirim sistemi, göz ve pankreastan elde edilebilmişlerdir (Güneş, 2012).

#### 2.2.1. Hematopietik Kök Hücreler

Erişkin tip kök hücre türlerinden biri olan hematopietik kök hücreler (HKH), bütün kan hücre serilerine dönüşebilme yeteneğindedirler. Hematopietik kök hücreler kemik iliği, periferik kan, kordon kanı ve fetal karaciğerden elde edilebilirler (Küstü, 2008; İnan ve Özbilgin, 2009; Güneş, 2012). Fare, maymun ve insan HKH'leri blastosistlerden köken alırlar (Akar ve ark., 2009). Normal fizyolojik durumda, HKH'ler ve ETKH'ler, sessiz dönemde uzun süre kalabilirler (İnan ve Özbilgin, 2009).

#### 2.2.2. Mezenkimal Kök Hücreler

Mezenkimal Kök Hücreler (MKH) kemik iliği stroması içinde yer alan, erişkin tip kök hücrelerdir. Daha çok destek hücresi özelliği taşıyan fibroblast benzeri multipotent hücrelerdir. Uygun koşullarda yağ, kemik, kırıkta, kas, tendon, ligament gibi hücrelere farklılaşabilirler. Ayrıca mezodermal kökenli olmayan endotel ve nöroektoderm de dahil olmak üzere çok çeşitli hücrelere farklılaşabilirler (Chen ve ark., 2007; İnan ve Özbilgin, 2009). Kemik iliği, MKH'ler için ana kaynak sayılmaktadır. Kas dokusu, diş pulpası, karaciğer, kordon kanı, kordon stroması, plasenta, amniyon sıvısı, sinoviyal sıvı, hatta periferik kandan da izole edilebilirler. Özellikle ağır hasar durumlarında, kemik kırıkları, multi organ yetmezlikleri hallerinde periferik kandan izole edilmektedirler (Akar ve ark., 2009).

### 2.2.3. Erişkin Tıp Kök Hücre Kaynakları

#### 2.2.3.1. Kemik iliği Kaynaklı Kök Hücreler

Kemik iliği, heterojen yapıdadır ve hematopoietik kök hücre, stroma hücreleri, kan progenitör hücreleri, eritrosit ve lökosit grubundan oluşur (Erbey, 2008). Kemik iliğinden köken alan kök hücreler; embriyonun mezoderm tabakasının farklılaşmasından meydana gelmektedirler. Bu hücreler daha sonra MKH'ler olarak adlandırılmıştır. Kemik iliği kök hücrelerinin değişim gösterebildiği doku hücreleri; kemik hücreleri, adipoz doku hücreleri, tendo ve ligament hücreleri ile birlikte kıkırdak ve kas dokusu hücreleridir (Erol ve Arıcan, 2008).

Kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerin multipotent karakterde olması, kolay alınabilmesi, hızlı çoğalabilmesi, elde edilen kök hücrelerin osteojenik, kondrojenik, kas ve tendo hücrelerine değişiminin daha kolay ve yüksek derecede gerçekleşebilmesi yönünden tercih edilmektedir (Erol ve Arıcan, 2008; Kruse ve ark., 2008). Bu yönüyle atlarda tendinitisin sağaltımında en yaygın kullanılan MKH'lerdendir (Erol ve Arıcan, 2008).

#### 2.2.3.2. Periferik Kan Kaynaklı Kök Hücreler

Periferik kanda sitokinle mobilize edilmiş hematopoietik kök hücreler kemik iliğindeki kadar iki kat daha fazla olup, kemik iliği yapılanması daha çabuk gerçekleşmektedir (Erbey, 2008).

#### 2.2.3.3. Adipoz Doku Kaynaklı Kök Hücreler

Adipoz doku kaynaklı kök hücreler multipotent özellikte kök hücrelerdir. Bu hücreler hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak osteojenik kapasitede olan hücrelerdir. Ayrıca; kardiyojenik, hepatojenik, kondrojenik, myojenik ve neurojenik hücrelere de dönüşebilme özelliğine sahiptirler (Bajada ve ark., 2008).

#### 2.2.3.4. Deri Kaynaklı Kök Hücreler

Bu hücreler her kıl siklusunda, follikül rejenerasyonunda ve yara iyileşmesi sırasındaki reepitelizasyonda görev alırlar (Levy ve ark., 2005).

Deriden alınan kök hücrelerden neural ve mezodermal hücreler elde edilmektedir. Bu neural ve mezodermal hücreler arasında; glia hücreleri, neuronlar, düz kas hücreleri ve adipositler bulunmaktadır (Koerner ve ark., 2006; Bajada ve ark., 2008).

#### 2.2.3.5. Kalp Kası Kök Hücreleri

Hasarlı miyokardiyumun rejenerasyonunda önemli kardiyak progenitör hücreler bulunmaktadır. Mezenkimal kök hücreler, HKH'ler ve kahverengi yağ dokusu kök hücreleri, kardiyomyositlere farklılaşabilirler (İnan ve Özbilgin, 2009).

#### 2.2.3.6. Nöronal Kök Hücreler

Bu hücreler farklılaşmamış olarak, sinir sisteminde en az bulunan ve en primordial hücrelerdir. Multipotent karakterli olan bu hücreler, nöron, astrosit ve oligodentrositlerin bütün alt tiplerine farklılaşabilirler. Sinir sisteminin dejenere veya hasarlanmış bölgelerinde yeniden çoğalabilirler. Ayrıca seri olarak transplante edilebilirler (İnan ve Özbilgin, 2009).

#### 2.2.3.7. Amniotik Sıvıdan Köken Alan Kök Hücreler

Amniotik sıvıdan köken alan kök hücreler embriyonun ektoderm, endoderm ve mezodermden köken alan tüm organ ve yapıların hücrelerine değişim gösterebilmektedir. Multipotent hücre grubunda değerlendirilmelerine rağmen, pluripotent özellik göstermektedirler (Bajada ve ark., 2008).

#### 2.2.3.8. Göbek Kordonu Kaynaklı Kök Hücreler

Kordon kanı, HKH'ler yönünden zengin bir yapıya sahiptir. Erişkin periferik kanı ile karşılaştırıldığında ise kordon kanı daha fazla progenitör hücre içerir. Ancak kordon kanı hücreleri olgunlaşmamıştır ve sitokin yapımı erişkin kök hücrelerinden daha düşüktür. Kordon kanının dondurulması işlemleri nedeniyle kök hücrelerin miktarı azalır. Bu nedenle nakil daha çok çocuklarda tercih edilir (Erbey, 2008).

Göbek kordonu kaynaklı kök hücreler; göbek kordonu kanı ve Wharton Jelatinini'nden elde edilmektedir. Göbek kordonundan elde edilen kök

hücreler hem pluripotent hem de hematopoietik özellik taşıırken, Wharton Jelatini'nden elde edilen kök hücreler ise multipotent özellik taşımaktadır. Bu hücreler daha zayıftır ve lokalize oldukları yerlerde immunosupressif etki göstermektedirler. Kordon kanı önemli bir kök hücre kaynağı olarak bilinmekte ve kemik iliği ya da perifer kan kök hücrelerinden daha fazla miktarda kök hücre içermektedir (Koerner ve ark., 2006; Erol ve Arıcan, 2008).

### 2.2.3.9. Uterus Kök Hücreleri

İnsan myometriyum ve endometriyumundan, erişkin kök hücre aktivitesi olan kök hücreler elde edilmiştir. Endometriyumun bazal katında bulunan kök hücreler tarafından sürdürülen yenilenme, miyometriyumdan daha fazladır. Günümüzde halen endometriyal kök hücrelerin tam anlamıyla tanınması ve karakterize edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Gargett, 2007).

## 3. KÖK HÜCRE ELDE EDİLMESİ

### 3.1. Embriyonik Kök Hücrelerin Elde Edilmesi

Blastosist iç hücre kitlesinden kök hücre elde edilmesi mekanik ve immun cerrahi izolasyon yöntemi olmak üzere iki yolla yapılmaktadır (Karaşahin, 2012).

#### 3.1.1. Mekanik İzolasyon

Mekanik izolasyonda embriyonik kök hücre dizileri kültüre edilmiş blastosistlerin mekanik diseksiyonu ve trofoblast tabakasının iğne ile kısmi uzaklaştırılması veya zonasız embriyoların doğrudan mitotik olarak inaktif fibroblast hücreleri üzerine yerleştirilmesiyle elde edilmektedir. Trofoblast hücreleri uzaklaştırılmadığında veya kısmen çıkarıldığında iç hücre kitlesi trofoblastlarla birlikte tek tabaka halinde büyür. İç hücre kitlesi yeterli büyüklüğe ulaştığında ise ayrılarak kültüre edilir. Fibroblastlar üzerinde çoğalan EKH kolonileri, iki-üç günde bir pasajlama yapılarak yeni kültür payetlerine ekilir. Elde edilen EKH'ler uygun kültür ortamında farklılaşmadan çoğalabilir ve yaklaşık altı ay-bir yıl kadar pluripotent özelliklerini koruyabilirler (Karaşahin, 2012).

### 3.1.2. İmmun Cerrahi Yöntemi

İmmun cerrahi izolasyonda, blastosist zona pellusidasi, pronaz enzimiyle eritilir, 20 dakika anti-insan serumu antikorunu sonrasında 30 dakika da kobay komplemanı ile muamele edilir. Daha sonra insan veya fare embriyosu, insan veya fareye karşı geliştirilmiş serum antikorlarıyla inkübe edilir. Antikoru blastosist içine geçişi trofoblast hücreleri tarafından engellenmekte ve iç hücre kitlesine antikor teması olmamaktadır. Antikor yıkandıktan sonra blastosist kompleman içeren solüsyon içine alınarak, hücre lizisi belirgin hale gelene kadar bekletilir. İnaktive olmuş iç hücre kitlesi, fare embriyonik fibroblastları üzerinde kültüre edilir. Kültür ortamından Lösemi inhibitör faktör (LIF) veya besleyici tabaka uzaklaştırıldığında, EKH'ler sıvı kültürde kendiliğinden farklılaşmaya başlar ve embriyonik cisimcikleri oluştururlar (Karaşahin, 2012).

### 3.2. Hematopoietik Kök Hücrelerin Elde Edilmesi

Otolog nakillerde kök hücre kaynağı olarak çoğunlukla periferik kandan elde edilen HKH'ler kullanılmaktadır. Günümüzde HKH, kemik iliği, periferik kan ve kordon kanı olmak üzere üç kaynaktan elde edilmektedir (Gülbaş, 2010).

## 4. KÖK HÜCRE NAKLİ

### 4.1. Allojenik Kök Hücre Nakli

Allojenik kök hücre nakli; sağlıklı vericiden alınan hematopoietik kök hücrelerin, alıcıya yüksek doz kemoterapi sonrası verilmesi işlemidir. Vericinin kemik iliğinden ya da periferik kanından toplanan kök hücreler kan bankasında işlemden geçtikten sonra hastaya aynı gün içinde ve dondurulmadan kateter yoluyla infüze edilir (Erbey, 2008).

### 4.2. Otolog Kök Hücre Nakli

Otolog kök hücre nakli; kişinin kendisinden alınan kemik iliği/periferik kan kök hücrenin, dimetil sülfoksit (DMSO) ya da hidroksetil starch (HES) ile dondurularak; -135 °C mekanik dondurucu, -156 °C buhar ya da -196 °C nitrojen tanklarında saklanıp,

yüksek doz kemoterapi sonrasında kişiye verilmesi işlemidir (Erbey, 2008).

#### 4.3. Sinjeneik Kök Hücre Nakli

Hastanın tek yumurta ikizinden kök hücre toplanarak yapılan allojenik kök hücre naklidir (Erbey, 2008).

#### 4.4. Kordon Kanı Kök Hücre Nakli

Allojenik kök hücre nakli gibidir. Ancak burada kullanılan kök hücreler, doku grubu uyumlu kardeşin doğumu sırasında toplanan kordon kanı kök hücreleri veya akraba dışı vericiden toplanan kordon kanı kök hücreleridir (Erbey, 2008).

### 5. Kök Hücrelerin Veteriner Hekimlikte Kullanımı

Kök hücreler klinik veteriner hekimlikte yaygın olarak atlar ve köpeklerde iskelet ve kas yaralanmalarında kullanılmaktadırlar (Fortier ve Travis, 2011). Bunun dışında karaciğer hasarı, diyabet, miyokardial enfarktüs, retina hastalıkları, kemik iliği hastalıkları gibi birçok hastalıkta kullanılmaktadır (Fortier ve Travis, 2011; Zhou ve ark., 2011; Gattegno-Ho ve ark., 2012).

Mezenkimal kök hücreler atlarda kemik iliği, kordon kanı ve yağ dokudan elde edilmişlerdir. Bu dokulara ek olarak amniyondan da mezenkimal kök hücre elde edilmiş ve kondrositlere farklılaşması sağlanmıştır (Violini ve ark., 2012). Atlarda kordon kanından mezenkimal kök hücresi, doğum sırasında non-invaziv kordon kanı alınması sonrasında izole edilebilir (Koch ve ark., 2007). Kemik iliği sternum ya da tuber koksadan sedasyon altında veya anestezi halindeki attan operatif yolla toplanabilir (Fortier ve Travis, 2011). Atlarda kök hücre kaynağı olarak periferik kan da kullanılabilir (Marfe ve ark., 2012).

Köpeklerde pankreastan, progenitor hücre kümesi potansiyeli olan, küçük hücreler elde edilmiştir (Petrovavloskaia ve Rosenberg, 2002). Hasar görmüş köpek kalbinden, kardiyak kök hücrelerin izole edilmesiyle, kardiyak enfarktüslerde kök hücre tedavisi ile iyileşme sürecinin hızlanacağı saptanmıştır

(Gattegno-Ho ve ark., 2012). Kemik iliği toplanması işlemi köpeklerde proksimal humerus, proksimal femur ya da tuber koksadan yapılabilmektedir (Fortier ve Travis, 2011).

Koyunlarda kordon kanı, invaziv olarak, cerrahi yöntemle intrauterin olarak toplanmıştır. İneklerde iliak krestten toplanan kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücreler viroloji denemelerinde kullanılmak üzere osteositlere farklılaştırılmışlardır. İneklerde kordon kanından alınan örnekler çok sayıda kültüre edildikten sonra, kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücrelere benzer hücreler elde edilmiştir (Raoufi ve ark., 2011).

Veteriner hekimlikte sağaltım amaçlı kök hücre uygulaması, ilk kez atlarda suspansor ligamentin dezmitisinin tedavisinde uygulanmıştır. Bu uygulama, sternumdan alınan saf kemik iliği aspiratının yüksek dozda, direkt hasarlı ligamente uygulanması şeklindedir. Atlar ve köpeklerde mezenkimal kök hücrelere dayalı tedavi yaklaşımı daha çok tendo, ligament veya kırık-dak-kemik hasarlarında kullanılmaktadır (Fortier ve Travis, 2011). Koroner ülser ve retinal ayrılma olgularında, atların periferik kanından elde edilen kök hücreler, direkt lezyon bölgesine veya intravenöz yolla uygulanmaktadır (Marfe ve ark., 2012). Domuzlarda uyarılmış pluripotent kök hücreler, retinal kök hücre transplantasyonunda kullanılmışlar ve başarılı bir şekilde rot fotoreseptör tabakasına farklılaşmışlardır (Zhou ve ark., 2011). Köpeklerde, kemik ve kemik iliği hastalıklarında kullanılan embriyonik kök hücreler, hematopoietik progenitor hücrelere farklılaşmışlardır (Schneider ve ark., 2007).

### SONUÇ

Sonuç olarak; kök hücrenin elde edilmesi, nakli ve sağaltım amaçlı kullanımı günümüzün güncel alanlarından biridir. Ancak, özellikle veteriner hekimlikte kök hücre daha çok deneysel çalışmalarla sınırlı olup, pratikte henüz yeterince uygulama alanı bulamamıştır. Bununla birlikte, yakın gelecekte, veteriner hekimlikte birçok hastalığın tedavisinde kök hücrenin önemli bir uygulama alanına sahip olacağı

düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Akar AR., Arat M., Beksaç M., 2009. Türkiye Bilimler Akademisi Raporlar. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. 1. Baskı, Yalçın Matbaacılık, Ankara.
- Bajada S., Mazakova I., Richardson JB., Ashammakhi N., 2008. Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2, 169-183.
- Chen Z., Chang M., Peng Y., Zhao L., Zhan Y., Wang L., Wang R., 2007. Osteogenic growth peptide C-terminal pentapeptide [OGP(10–14)] acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Regulatory Peptides*, 142, 16-23.
- Erbey F., 2008. Allojenik kök hücre nakli yapılan malign ve nonmalign hastalığa sahip çocuklarda transplant ilişkili trombotik mikroanjiyopati. Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı. Yan dal Uzmanlık tezi, Adana.
- Erol H., Arıcan M., 2008. Atlarda tendinitisin kök hücre ile sağaltımı I: Kök hücre nedir? Veteriner hekimliğinde kullanım alanları nedir? *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14, 26-31.
- Fortier LA., Travis AJ., 2011. Stem cells in veterinary medicine. *Stem Cell Research & Therapy*, 1, 2-9.
- Gargett C.E., 2007. Uterine stem cells: What is the evidence. *Human Reproduction Update*, 1, 87-101.
- Gattegno-Ho D., Arygle SA., Arygle DJ., 2012. Tools to understand diseases and enable tissue regeneration and drug discovery. *The Veterinary Journal*, 191, 19-27.
- Gülbaş Z., 2010. Kök hücre kaynağı ve hazırlık rejimi belirlenmesi. 6. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, Antalya, 1, 9-13.
- Güneş A.M., 2005. Kök hücre plastisitesi ve tıptaki kullanım alanları. *Güncel Pediatri*, 3, 36-42.
- İnan S., Özbilgin K., 2009. Kök hücre biyolojisi. *Sağlıkta Birlik Dergisi*, 1, 11-23.
- Karaşahin T., 2012. Embriyonik kök hücreler. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9, 65-71.
- Koch TG., Heerkens T., Thomsen PD., Bett DH., 2007. Isolation of mesenchymal stem cells from equine umbilical cord blood. *BMC Biotechnology*, 7, 1-9.
- Koerner J., Nestic D., Romero JD., Brehm W., Mainil-Varlet P., Grogan SP., 2006. Equine peripheral blood-derived progenitors in comparison to bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 24, 1613-1619.
- Kruse C., Danner S., Rapoport DH., 2008. Current stem cell technology: limitations and realistic expectations. *Engineering in Life Sciences*, 8, 13-18.
- Küstü E., 2008. Allogeneik periferik kök hücre transplantasyonunda vericilere (donör) eşit dozda uygulanan iki farklı rekombinant büyüme faktörünün (rhug-csf) karşılaştırılmalı çalışması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi.
- Levy V., Lindon Catherine, Harfe BD., Morgan BA., 2005. Distinct stem cell populations short article regenerate the follicle and interfollicular epidermis. *Developmental Cell*, 9, 855-861.
- Marfe G., Massaro-Giordano M., Ranalli M., Cozzoli E., Stefano CD., Malafoglia V., Poletini M., Gambacurta A., 2012. Blood derived stem cells: An ameliorative therapy in veterinary
- Schatten H., 2007. Introduction histology, cellular and molecular biology. In: *Comparative Reproductive Biology*. Ed.: Schatten H., Constantinescu G.M., 64-65, Blackwell Publishing.
- Schneider MR., Adler H., Braun J., Kienzle B., Wolf E., Kolb H.J., 2007. Canine embryo-derived stem cells-toward clinically relevant animal models for evaluating efficacy and safety of cell therapies. *Stem Cells*, 25, 1850-1851.
- Ural A.U., 2006. Kök hücre. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*, 5, 3-4.
- Violini S., Gorni C., Pisani LF., Ramelli P., Caniatti M., Mariani P., 2012. Isolation and differentiation potential of an equine amnion-derived stromal cell line. *Cytotechnology*, 64, 1-7.
- Zhou L., Wang W., Liu Y., Castro JF., Ezashi T., Telugu

BP., Roberts M., Kaplan H., Dean D., 2011.  
Differentiation of induced pluripotent stem cells  
of swine into rod photoreceptors and their  
integration into the retina. *Stem Cells*, 29, 972-  
980.



## Dişi Genital Kanalda Sperm Hücrelerinin İlerlemesini Sağlayan Faktörler\*

Ali Doğan ÖMÜR<sup>1✉</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

**Özet:** Dişi genital kanalda sperm hücrelerinin ilerlemesini çok sayıda faktör etkiler. Bu faktörler genel olarak mekanik, hücresel, hormonal, kimyasal faktörler şeklinde sınıflandırılabilir. Fertilizasyon başlı başına bir dizi kompleks hücresel ve moleküler reaksiyonlar zinciri sonucunda şekillenir. İleri yönde hareket etme kabiliyetine sahip spermatozoonlar dişi genital kanala aktarıldıktan sonra fertilizasyona kadar geçirdiği süreçte kendi hareketleri ve dişi genital kanalın kontraksiyonlarıyla taşınmaktadırlar. Hipofiz arka lobundan oksitosin hormonunun salgılanması ve sperma içerisinde bulunan prostaglandinlerin dişi genital kanal kaslarında güçlü kontraksiyonlar meydana getirmesi de spermatozoonların taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Ejakulasyon sonrasında, spermatozoonlar erkek eklenti bezleri tarafından salgılanan proteinlerle kaplanmış durumdadır. Boğada, bu proteinler PDC-109 (BSP-A1/-A2), BSP-A3 ve BSP-30-kDa gibi sığır seminal plazma proteinlerinden oluşmaktadır. PDC-109 sperm hücrelerini ovidukt epitelyumuna bağlayarak ovidukta sperm rezervinin şekillenmesinde rol oynamaktadır. Fertilizasyonu doğrudan etkileyen bu faktörlerin irdelenmesi büyük önem taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Dişi genital kanal, Sperm hücreleri.

## The Factors Ensuring the Progress of Sperm Cells in the Female Genital Tract

**Abstract:** Numerous factors affect the progress of sperm cells in the female genital tract. These factors generally can be classified as mechanic, cellular, hormonal, and chemical factors. Fertilisation occurs as a result of a series of complex cellular and molecular reactions. Spermatozoa having the ability to move forward are transported by their own movements and by contractions of the female genital tract in the fertilisation process after being transferred thorough the female genital tract. Secretion of oxytocin from the posterior lobe of the pituitary and effectuate powerful contractions of prostaglandins in semen on the muscles of female genital tract play an important role in the sperm transport. After ejaculation, spermatozoa are coated with proteins, as secreted by male accessory glands. In bulls, these proteins consist of cattle seminal plasma proteins such as PDC-109 (BSP-A1/-A2), BSP-A3 and the BSP-30-kDa. The PDC-109 plays a role in the formation of sperm reserves in the oviduct by connecting the sperm cells to the oviduct epithelium. Investigation of these factors affecting the fertilisation possesses great importance.

**Key words:** Female genital tract, Sperm cells.

✉ Ali Doğan ÖMÜR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

e-posta: alidoganomur@gmail.com

\*Yazarın aynı isimli doktora seminerinden özetlenmiştir.



## GİRİŞ

**K**opulasyon veya suni tohumlamadan sonra spermanın dişi genital kanala aktarımını takiben spermatozoonlar, sayılarında ve fonksiyonlarında değişiklik yapacak bir dizi faktörlerin etkisine maruz kalmaktadırlar. Bir çoğu fagosite olurlar, bir kısmının da ters yönde ilerlemesi (retrograde transport) nedeni ile dişi genital kanaldaki sayıları azalır. Geriye kalan spermatozoonlar ise serviks ve uterusu geçip fekdasyon bölgesi ovidukta ulaşmaya çalışırlar ve oositi dölleyebilmeleri için kapasitasyona uğrarlar. Oositle karşılaştıklarında akrozom reaksiyonu geçirirler ve ardından fertilizasyon süreci başlar (Senger, 1999).

### Seminal Plazma

Seminal plazmanın fizyolojik görevi erkek gametlerini dişi genital organlarına aktaran tampon sıvı olarak görev yapmak ve spermatozoon hareketini kolaylaştırmaktır. Seminal plazma türlere göre farklı bir hacme sahip olmakla birlikte, spermatozoonlar için besin maddeleri ve yoğunluğu düzenler. Fruktoz ve sorbitol gibi spermatozoa tarafından direkt olarak kullanılabilen enerji kaynaklarını bünyesinde bulundurur. Spermatozoonların fonksiyonlarını modüle eder, spermanın olgunlaşmasında rol alarak dişi genital sisteminde kapasitasyon işlemlerinin ve gamet etkileşimlerinin kompleks basamaklarını yönlendirir (Çevik ve Tuncer, 2005).

### Spermanın Dişi Genital Kanala Aktarılması

Sperma dişi genital kanala doğal aşım ile aktarıldığında vajinanın kranialine, suni tohumlama uygulamasında ise serviks, korpus uteri ve kornu uteriye bırakılmaktadır. Dolayısı ile fekdasyon bölgesine taşınmada doğal aşım ile vajinaya bırakılan spermatozoonlar serviks bariyerini geçmek zorundadırlar. Ayrıca bir östrüste birden fazla hayvan ile çiftleşen türlerde farklı bireylerin spermatozoonları rekabete yol açmakta ve doğal seleksiyon oluşumuna yol açmaktadır (Austin ve Short, 1976)

### Spermanın Dişi Genital Kanalda Taşınması

Fekondasyonun oluşabilmesi için kapasite olmuş yeterli sayıda spermatozoonun ovulasyon esnasında ovidukta bulunması gerekmektedir. Ejakulasyondan sonra dişi genital kanala bırakılan spermatozoonlar, genital kanal salgıları ile karşılaşılır. Genital kanal salgıları spermatozoonları koruyucu ve uyarıcı etkiye sahiptir. Spermatozoonlar ilk aşamada serviks ve myometrium kontraksiyonları ile uterusu taşınırlar. Pasif olarak gerçekleşen bu taşınma işleminde; tohumlamanın veya çiftleşmenin etkisi ile oluşan nöro-hormonal uyarımlar ve seminal plazma içerisinde bulunan maddelerin (prostaglandin) myometrium kontraksiyonlarını uyarması önemli rol oynamaktadır. Spermasını vajinaya bırakılan türlerde ilk engeli serviks oluşturmaktadır. Servikal mukus miselleri, spermatozoonları servikal kriptler arasına yönlendirerek burada sperm rezervlerinin oluşmasında ve serviks engellerinin aşılmasında önemli rol oynar. Servikal kriptler spermatozoonların yaşaması için uygun bir ortam oluşturmanın yanında spermatozoonları, serviks lümeninden vajinaya doğru akan çaradan korur. Genel olarak ise spermatozoonlar için dişi genital kanalda mekanik (kıvrımlar, kriptler, silyumlar), fiziko-kimyasal (vajinal salgı, servikal mukus) ve immunolojik engeller bulunmaktadır (Çoğan, 2005). Utero-tubal bağlantı yeri farklı türlerde değişken darlıktadır ve sperma taşınmasında açık olarak bir bariyer oluşturur (İleri ve ark., 2002).

Dişi üreme kanalı östrüs süresince östradiolün etkisi altındayken, nötrofiller özellikle vajina ve uterus mukozasını kuşatırlar. İmmunolojik açıdan spermatozoonlar, dişi genital kanalı için yabancı materyallerdir. Bunun sonucu olarak, nötrofiller ölü veya canlı ayırt etmeksizin spermatozoonları fagosite etmektedirler. Aslında bir tek nötrofil, motil olsalar bile birkaç spermatozoonu fagosite edebilir. Çalışmalar göstermiştir ki; spermatozoonların uterusu girişinden sonraki 6-12 saat içerisinde uterus mukozasından

uterus boşluğuna büyük ölçüde nötrofil infiltrasyonu olmaktadır (Senger, 1999).

### **Spermanın Dişi Genital Kanalda İlerlemesini Sağlayan Başlıca Önemli Etkenler**

#### **Mekanik faktörler**

Genital kanaldaki düz kas kontraksiyonları, silyal vurumlar, uterus ve tuba uterinadaki sıvı akımları ve spermatozoon flagellar aktivitesi spermatozoonların taşınmasında önemli rol oynamaktadır (Hawk HW, 1983; Miki ve Clapham, 2013). Ayrıca ovidukt içerisinde ovum yönüne silyumları ile vuruş yapan kinozilien hücreleri de taşınmaya yardımcı olurlar (İleri ve ark., 2002).

#### **Flagellasyon (kamçılama)**

Spermatozoonun serviksin katmanlarına giriş yapmasında gereklidir ve utero-tubal bölgeyi geçmesinde, istmustan ampullaya hareketinde ve ovuma penetrasyonunda başlıca rol oynamaktadır (Hawk HW, 1987)

#### **Hormonal etki**

Prostaglandin  $F_{2\alpha}$ , oksitosin, östradiol gibi hormonların da spermatozoonların taşınmasında pozitif etkileri vardır (Hawk HW, 1983). Östradiol, özellikle miyometriyumun kasılmasını uyarır. Spermadaki prostaglandinlerin de ( $PGF_{2\alpha}$  ve  $PGE_1$ ) uterus ve oviduktun tonusu ve motilitesinde artışa sebep oldukları bildirilmiştir (Senger, 1999). Hormonların yanında fenilefrin (vazokonstrüktif etkili) ve ergonovin (oksitosin etkili) gibi maddelerin sperm taşınmasını artırdığı bildirilmiştir (Hawk HW, 1983). Stres faktörlerinin etkisiyle salgılanan adrenalin, asetilkolin ve histamin ise uterus kontraksiyonlarını engelleyerek sperm taşınmasını olumsuz yönde etkilemektedir (Busch ve Holzmann, 2001).

#### **Servikal Mukus**

İneklerde östrüs esnasında serviksten salgılanan mukus iki tiptir. Sialomusin olarak adlandırılan birinci tip, düşük viskoziteye sahiptir. Servikal kriptlerin bazal

bölgelerindeki hücreler tarafından oluşturulur. Sulfomusin olarak adlandırılan ikinci tip mukus ise, servikal epitelin apikal alanlarında salgılanır ve yüksek viskoziteye sahiptir (Senger, 1999). Servikal mukusun ovaryen siklusun foliküler fazında östrojenin etkisi altında daha sulu, daha az viskoz ve daha bol olması dolayısıyla spermatozoa taşınımı siklusun bu döneminde daha kolaydır. Buna karşın siklusun luteal fazında progesteronun etkisi altında servikal mukus yetersiz ve kısmen viskoz olması nedeniyle sperm taşınımı için elverişli değildir (Hunter, 1995; Suarez, 2006).

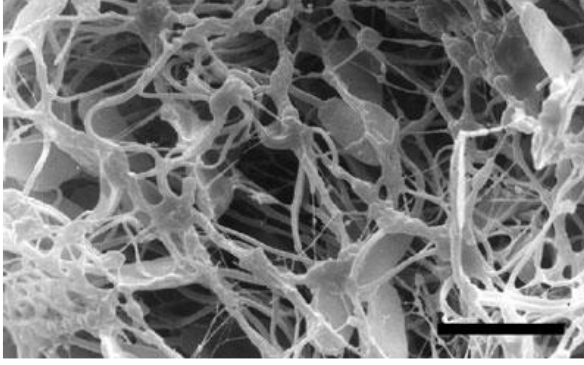
#### **Spermatozoa motilitesi**

Özellikle serviksin ve utero tubal bölgenin geçilmesinde ve zona pellusidanın penetrasyonunda spermatozoonun motil olması gerekir. Spermatozoonun motilitesi bazı endojen ve eksojen faktörler tarafından etkilenmektedir. Glikolizis ve solunum, spermatozoanın ejakulat içindeki hareketini sağlayan faktörlerdir. Ayrıca ejakulat içindeki spermatozoa yoğunluğu da motilitede önemli rol oynar. Seminal plazma içerisinde bulunan bazı maddelerin de motiliteyi artırıcı özellikleri vardır. Bunlar arasında Mn, Zn, kafein, FMP (Forward Motility Protein) ve theofillin sayılabilir (Busch ve Holzmann, 2001).

#### **Vajinal Sıvı**

Tavşanlar, ruminantlar ve primatlar gibi çiftleşme zamanında spermasını anterior vajinaya bırakan hayvanlarda vajinal sıvı, spermatozoonların genital organların ileri kısımlarına doğru taşınmalarında karşılaştığı ilk fizyolojik medyumdur. Vajinal sıvı esasen servikal salgılardan kaynaklanan kompleks bir bileşime sahip biyolojik bir üründür (Odeblad, 1968). Vajinal sıvının fiziksel ve kimyasal özellikleri hormonal etkiyle siklik değişiklikler gösterir (El-Banna ve Hafez, 1972). Servikal salgılar foliküler faz veya östrojen etkisine bağlı bazı koşullarda sperm nüfuzu için elverişlidir. Luteal faz veya gestagen etkisine bağlı durumlarda ise sperm nüfuzu için elverişli değildir. (Rutlant ve ark., 2002).

Sütçü ineklerde yapılan bir çalışmada, östrüste elde edilen vajinal sıvının yapısıyla sperm hareketi arasında yakın bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir (Lopez-Gatius ve ark., 1994). Sperm migrasyon etkinliği, vajinal sıvının yoğunluğunun düşük olmasına bağlıdır. Östrüsün ortası spermin uterusu ulaşması için elverişli bir dönemdir. (Rutllant ve ark., 2005).



**Şekil 1.** Vajinal sıvı örneğinde spermatozoonların fotomikrografisi (Rutllant ve ark., 1999).

**Figure 1.** Photomicrography of spermatozoa in vaginal fluid sample (Rutllant et al., 1999).

### Hiperaktivasyon

Hiperaktivasyon sonucu spermatozoonların kuyruklarında kamçı benzeri hareketler gözlenir. Hiperaktivasyonun oluşumu ise spermatozoonların kalsiyum alımıyla ilgilidir (Yanagimachi ve Usui, 1974).

### Diğer Faktörler

Hereditör, immünolojik, psikolojik etkenlerdir. Suni tohumlama esnasında özellikle vajina ve serviksteki psikokimyasal ve immünolojik faktörler sperm taşınmasını etkiler (Hafez, 1979). Ayrıca termotaksin sperm transportunda kısmi olarak etkili olduğu bildirilmiştir (Bahat ve ark., 2012).

### İstmusun Kaudalinde Sperm Rezervlerinin Oluşturulması

Östrüs süresi uzun olan evcil hayvanlarda östrüs başlangıcında yapılan aşimlardan sonra dişi genital kanalda spermatozoonların ovulasyona kadar yaşayabilecekleri, dölleme yeteneklerini koruyabilecekleri sperm depoları oluşturmaları

gerekmektedir. Bu nedenle gerek spermasını uterusu gerekse vajinaya bırakan türlerde oviduktun kaudal istmus bölgesinde sperm depoları oluşturulmaktadır. Sperm deposu olarak görev yapan istmusun görevleri arasında; spermatozoonların yaşayabilmeleri için uygun ortam oluşturulması, kapasitasyonun ve anormal spermatozoonların seleksiyonu ile fekondasyon bölgesine ulaşacak spermatozoon sayısının sınırlandırılması sayılabilir. İstmus bölgesinin özelliği; lümenin aşırı dar olması, viskoz salgısı ile mikrovilluslu ve silyumlu hücrelere sahip olmasıdır. İstmus bölgesinde spermatozoonlar türe bağlı olmakla birlikte 24 saatten 5-6 güne kadar canlı kalabilmektedir. Spermatozoonların bu bölgede yaşamalarını sürdürebilmeleri fagositozdan korunmalarına, enerji kaynağının bulunmasına ve erken kapasitasyonun önlenmesine bağlıdır (Çoyan, 2005).

Utero-tubal kavşak ve kaudal istmus fertilizasyon yeteneğine sahip spermatozoonların depo bölgesidir. Aynı zamanda oviduktal mukus da spermatozoonların depolanmasına katkıda bulunur (Suarez ve ark., 1997).

### Spermanın Dişi Genital Kanala Aktarıldıktan Sonra Uğradığı Yapısal ve Fonksiyonel Değişiklikler

Bütün memeli türlerinde, spermatozoa dişi genital kanalına bırakıldığı anda dölleme yeteneğine sahip değildir. Bundan dolayı fertilizasyona hazırlık sürecinin geçirilmesi gerekir. Bu süreç; maturasyonu, başlangıçtaki membransel değişimleri yani kapasitasyonu ve ardından akrozom reaksiyonunu kapsar (Akyol, 2005).

### Spermatozoa Kapasitasyonu ve Akrozom Reaksiyonu

Dişi genital kanalında meydana gelen kapasitasyona yüksek konsantrasyonlarda bulunan glikozaminoglikanlar neden olur. Kapasitasyon yerindeki heparin ve heparin benzeri glikozaminoglikanlar (heparin sülfat, kondroitin sülfat, hiyalürinik asit gibi) boğa spermatozoonlarının kapasitasyonu için fizyolojik stimülatörlerdir (Parrish ve ark., 1989).

Akrozom reaksiyonu ise spermatozoonun plazma membranını ile dış akrozomal membranları arasındaki birleşmeler ve bu membranlar arasında enzimlerin dışı salınmalarına neden olan membran yıkımlanmalarını kapsar (Fléchon ve ark., 1986).

Memelilerde fertilizasyondan hemen önce spermatozoonlar yüksek oranda motilite gücüne ulaşırlar. Bu durum spermatozoonun fertilizasyon yeteneğinin kritik bir ölçütüdür. Çünkü fertilizasyonun tamamlanabilmesi için spermatozoonun geçmek zorunda olduğu, kumulus hücre katmanı, zona pellusida ve ooplazma membranı gibi üç önemli engel vardır. Ca<sup>++</sup> iyonları spermatozoonların hücre içi cAMP miktarının artmasına ve motilitenin uyarılmasına yol açmaktadır (Akyol, 2005).

#### **Spermatozoonların Dişi Genital Kanalda Yaşam Süresi**

Ovumun yaşam süresi ortalama 6 saat kadardır ve fertilizasyon kabiliyeti birkaç saat içerisinde azalmakta sonrasında ovum ölmektedir. Bu nedenle optimal fertilizasyon sonuçlarının elde edilebilmesi için, spermatozoonların ovulasyon zamanında veya öncesinde fertilizasyon yerinde hazır bulunmaları gerekmektedir. Buradan spermatozoonların ovumdan daha uzun bir yaşam ve fertilizasyon kabiliyetine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu süre yani spermatozoonların fertil yaşam süreleri genellikle bazı istisnaların dışında inek ve düvelerde 24 saat olarak kabul edilmektedir (İleri ve ark., 2002).

#### **Sperma-Uterus Etkileşimi**

Evcil hayvanların uterusu, sperma ile uterus etkileşiminde çift role sahiptir. Bunlardan birisi, uterus kontraksiyonlarının spermatozoonları uterusu doğru taşınması, diğeri ise fazla spermatozoitleri uterustan uzaklaştırmasıdır. Sperm ve seminal plazma muhtemelen uterus kontraksiyonlarını uyarır. Seminal plazma, uterusta immün sistemi baskılayıcı etkiye sahiptir. Sperma-uterus etkileşimi, tohumlama tipi, motilite, motil sperm yoğunluğu ve seminal plazmanın varlığı ya da yokluğu tarafından değiştirilebilir (Gündoğan ve Uçar, 2003).

#### **Fertilizasyon**

Fertilizasyon veya döllenme, haploid kromozom yapılarına sahip dişi ve erkek gamet hücrelerinin birleşmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu amaçla normal bir fertilizasyonda bir tek spermatozoon ovum plazması içerisine girmekte ve ovum aktive edilmektedir. Spermatozoonun aktivasyonu olmadığı durumlarda ovum bölünmemekte ve böylece de embriyonal gelişme olmamaktadır. Bütün çiftlik hayvanlarında fertilizasyonun yeri, oviduktun ampullasının istmusa geçtiği bölge olarak tanımlanmakta ve spermatozoonların fertilizasyon yerine yalnızca ovulasyon zamanında göç ettikleri, ovulasyon öncesinde oviduktun spermatozoon deposu olan istmus bölgesinde buldukları bildirilmektedir (İleri ve ark., 2002).

#### **Füzyon, Aktivasyon, Penetrasyon**

Ovule olan bir ovum, kumulus hücreleri tarafından örtülmüş durumdadır ve hücrelerin müköz substansı bir hyaluron asididir. Kumulus ovum kompleksi içerisinde hyaluron asidinin rolü ise, ovumun oviduktun fibrilleri tarafından identifiye ve transport edilmesi şeklinde açıklanmaktadır. Kumulus hücrelerinin kapasitasyon ve fertilizasyon üzerine olan pozitif etkileri yanında, bu hücreler ayrıca spermatozoonlar üzerinde bir de kimyasal taksis oluşturmaktadırlar ve bu olay korona radiata hücrelerinin de varlığına bağlı olarak, fazla miktarda spermatozoonun ovumun zona pellusidası içerisine girebilmesinde etkili olmaktadır. Zona pellusida üzerinde spermatozoon reseptörleri bulunmaktadır ve sığırlarda spermatozoonların uygun bağlanma yerleri tahminen plazma membranıdır. Böylece de spermatozoonların zonaya bağlanması, akrozom reaksiyonunun tamamlanmasından hemen önce zona pellusidanın yüzeyinde meydana gelmektedir (İleri ve ark., 2002).

#### **SONUÇ**

Spermatozoonlar için fertilizasyon yerine varabilmek kolay bir görev değildir. Utero-tubal

bağlantı yeri taşınma sırasında kısmi bir bariyer oluştururken, vajinaya ejaküle edilen sperma için de serviks uteri aynı anlamı taşımaktadır. Ayrıca sperma, dişi genital organların sekretleriyle de iyice sulandırılmaktadır. Sperm hücrelerinin dişi genital kanalda ilerlemelerini sağlayan çok sayıda etkenin ve hala saptanamamış faktörlerin olmasıyla birlikte genel anlamda sperm hücrelerinin ilerlemesinde mekanik etkiler, hormonlar, genital kanal sıvıları, spermatozoon motilitesi rol oynamaktadır. Bu bağlamda spermatozoonlar fertilizasyon bölgesine sadece kendi hareketleri ile varamamaktadırlar. Zira spermatozoonların hızı saniyede 80-100 µ civarındadır ve bu süratle fertilizasyon yerine ancak 1,5-2 saatte varabilirler. Gerçekte ise spermatozoonların fertilizasyon yerine varmaları için gerekli süre, tabii veya suni tohumlamadan sonra yaklaşık 5 dakika olarak kabul edilmektedir (İleri ve ark., 2002). Spermanın dişi genital sistemi içerisinde taşınmasına etki eden faktörlerin detaylı olarak araştırılması ile olası olumsuz faktörlerin ortadan kaldırılabileceği ve bu anlamda fertilitite oranlarının olumlu yönde etkilenebileceği düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Akyol N., 2005. Sığırlarda in vivo ve in vitro fertilizasyon. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 45, 53-61.
- Austin CR., Short RV., 1976. *Fertpflanzungs\_bilogie der Säugetiere*. Verlag Paul Parey Berlin, Hamburg.
- Bahat A., Caplan SR., Eisenbach M., 2012. Thermotaxis of human sperm cells in extraordinarily shallow temperature gradients over a wide range. *PLoS ONE*, 7, p. e41915.
- Çevik M., Tuncer PB., 2005. Evcil hayvanlarda seminal plazmanın fiziko-kimyasal yapısı ve üreme fonksiyonları üzerindeki etkileri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 45, 63-72.
- Çoyan K., 2005. *İneklerde Suni Tohumlama El Kitabı*, 73-75, Konya.
- El-Banna AA., Hafez ESE., 1972. The uterine cervix in mammals. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 77, 145-164.
- Fléchon JE., Harrison RAP., Fléchon B., Escaig J., 1986. Membrane fusion events in the Ca<sup>2+</sup>/ionophore-induced acrosome reaction of ram spermatozoa. *Journal of Cell Science*, 81, 43-63.
- Gündoğan M., Uçar M., 2003. Sperma ile uterus etkileşimi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 13, 67-71.
- Hafez ESE., 1979. In vivo and in vitro sperm penetration in cervical mucus. *Acta Europaea fertilitatis*, 10, 41-9.
- Hawk HW., 1983. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *Journal of Dairy Science*, 66, 2645-60.
- Hawk HW., 1987. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *Journal of Dairy Science*, 70, 1487-503.
- Hunter RHF., 1995. Ovarian endocrine control of sperm progression in the Fallopian tubes. *Oxford reviews of reproductive biology*, 17, 85-125.
- İleri K., Ak K., Pabuccuoğlu S., Birler S., 2002. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama. *Ders Notu No, 133, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, İstanbul*.
- Kendall NR., McMullen S., Gren A., Rodway RG., 2000. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. *Animal Reproduction Science*, 62, 277-283.
- López-Gatius F., Rutllant J., López-Béjar M., Labernia J., 1994. Sperm motion and rheological behavior of the vaginal fluid of superovulated dairy heifers. *Theriogenology*, 41, 1523-1531.
- Massanyi P., Trandzik J., Nad P., 2004. Concentration of copper, iron, zinc, cadmium, lead, and nickel in bull and ram semen and relation to the occurrence of pathological spermatozoa. *Journal of Environmental Science and Health; Part A-Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, A39, 3005-3014.
- Miki K., Clapham DE., 2013. *Rheotaxis Guides*

- Mammalian Sperm. *Current Biology*, 23, 443-452.
- Odeblad E., 1968. The functional structure of human cervical mucus. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 47, 57–79.
- Parrish JJ., Susko-Parrish JL., Handrow RR., Sims MM., First NL., 1989. Capacitation of bovine spermatozoa by oviduct fluid. *Biology of Reproduction*, 40, 1020-1025.
- Rutlant J., López-Gatius F., Camón J., Lopez-Bejar M., Lopez-Plana C., 1999. A structural study of the bovine vaginal fluid at estrus. *Scanning*, 21, 204–211.
- Rutlant J., Lopez-Bejar M., Santolaria P., Yaniz J., Lopez-Gatius F., 2002. Rheological and ultrastructural properties of bovine vaginal fluid obtained at oestrus. *Journal of Anatomy*, 201, 53-60.
- Rutlant J., Lopez-Bejar M., Lopez-Gatius F., 2005. Ultrastructural and rheological properties of bovine vaginal fluid and its relation to sperm motility and fertilization: a Review. *Reproduction in Domestic Animals*, 40, 79-86.
- Senger PL., 1999. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 1st revised ed., The Mack Printing Group-Science Press, Ephrata, PA.
- Suarez SS., Brockman K., Lefebvre R., 1997. Distribution of mucus and sperm in bovine oviducts after artificial insemination: The physical environment of the oviductal sperm reservoir. *Biology of Reproduction*, 56, 447-453.
- Suarez SS., 2006. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3rd ed., 113–145, Elsevier, St. Louis.
- Yanagimachi R., Usui N., 1974. Calcium dependence of the acrosome reaction and activation of guinea pig spermatozoa. In "Diss. Vet. Med.", Ed., Vitt U., Freien Universität, Berlin.



## D Vitamini ve Metabolizma İçin Önemi

H. Turan AKKOYUN<sup>1✉</sup>, Mahire BAYRAMOĞLU<sup>2</sup>, Suat EKİN<sup>2</sup>, Fikret ÇELEBİ<sup>3</sup>

1. Ahi Evran Üniversitesi, Çiçekdağı Meslek Yüksekokulu, Kırşehir, TÜRKİYE.
2. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Van, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

**Özet:** Steroid bir hormon olarak kabul edilen D vitamini bitkisel kökenli ergosterol (vit-D<sub>2</sub>) ve hayvansal kökenli olup deride 7-dehidrokolesterolden türeyen kolekalsiferol (vit-D<sub>3</sub>) şeklinde sınıflandırılır. D vitaminleri kalsiferoller olarak ta adlandırılırlar. D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub> vitaminleri aynı yolla metabolize edilirler ve öncelikle karaciğerde 25-(OH) D<sub>3</sub>'e çevrilir, ardından böbreğe taşınarak D vitamini aktif formu olan 1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>'e dönüştürülürler. D vitamini, metabolizmada başta kemik ve iskelet sistemi olmak üzere birçok önemli fonksiyona sahiptir. Kalsiyum ve fosfor metabolizmasında rol alarak, kalsiyum ve fosforun bağırsaklardan emilimini sağlar. D vitamini aynı zamanda parathormonun salınımını önler. Yine D vitamini birçok hastalık ve kanser türüne karşı koruyucu etkilere sahiptir. Genel olarak D vitamini yetersizliği metabolizmada kemik ve iskelet sistemi rahatsızlıkları olarak kendini gösterir. Özellikle insan ve hayvanların yavrularında gözlemlenen rikets ve onun erişkinlerdeki şekli olan osteomalasi D vitamini yetersizliğinde en sık görülen hastalıklardır. D vitamini yetersizliğinin en önemli sebepleri arasında güneş ışığına yeteri kadar maruz kalmama yer alır. D vitamininin fazla miktarlarda alınması da metabolizmada toksik etkiye yol açarak, dönüşümü olmayan problemlere sebebiyet verir.

**Anahtar kelimeler:** D vitamini, Metabolizma.

## Vitamin D and Its Importance for the Metabolism

**Abstract:** Vitamin D, accept as a steroid hormone, is an ergosterol (vit-D<sub>2</sub>) of plant and animal origin. It is classified as cholecalciferol (vit-D<sub>3</sub>) derived from 7-dehydrocholesterol in the skin. Vitamins D are also called as calciferols. Vitamins D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> are metabolised in the same way, and at first, they are converted to 25-(OH) D<sub>3</sub> in the liver, then they are migrated to kidney and converted to 1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> is an active form of vitamin D. Vitamin D has many functions in metabolism, particularly in osseous and skeletal system. By having a part in calcium and phosphor metabolisms, it enables them to be absorbed in the intestines. It has also protective effects against a number of diseases and cancer types. Hypovitaminosis D manifests itself generally as bone and skeletal system disorders in metabolism. The most frequently observed diseases related to hypovitaminosis D are mainly the rickets in children and osteomalacia in adults. Limited exposure to the sunlight is among the most important reasons lying behind hypovitaminosis D. Further, the excessive intake of vitamin D leads to toxic effects and irreversible problems in the metabolism.

**Key words:** Vitamin D, Metabolism.

✉H. Turan AKKOYUN

Ahi Evran Üniversitesi, Çiçek Dağı Meslek Yüksekokulu, Kırşehir, TÜRKİYE.  
e-posta:turanakkoyun@hotmail.com

## GİRİŞ

Vitaminler çeşitli biyokimyasal işlevler için gerekli olup organizma tarafından ya yetersiz sentezlenirler yada hiç sentezlenmezler, bu sebeple diyetle dışarıdan alınırlar. Genel olarak yeşil bitkiler bu besin maddelerinin ana kaynağıdır (Munzuroğlu ve ark., 2000). Vitaminler metabolizma için önemli fonksiyonlara sahiptirler. Pek çok vitamin metabolizmada görev yapan enzimlerin ve proteinlerin yapısına girerek biyolojik olayların düzenlenmesini sağlar. Örneğin; askorbik asit metabolizmada birçok tepkimede görev yapar. Bunlardan en önemlisi kollojenin sentezinde yer alan prolinin, hidrokspoline hidrosilasyonu gibi tepkimelerine katılmasıdır. Ayrıca norepinefrinden dopamin sentezinde görev alır (Padayatty ve ark., 2003). Tiamin, tiamin pirofosfat denilen koenzimin yapısında bulunur. Bu koenzim ise birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapar (Park ve ark., 2003). A vitaminin görme olayında rolü oldukça büyüktür. D vitamini kalsiyum ve fosfat metabolizmasından sorumludur. Diyetle vitaminlerin yokluğu yada eksikliği birçok hastalığa sebep olmaktadır. (Munzuroğlu ve ark., 2000) Organizma bir vitamini yeteri kadar alamadığı takdirde bazı bozukluklar gözlemlenir. Yine fazla miktarda vitamin alınmasında metabolizmada problemlere yol açar (Fletcher ve ark., 2002). Vitamin eksikliği avitaminozis, minimum gereksinimin altında alınmasına ise hipovitaminozis olarak adlandırılır. Hipovitaminoziste genç hayvanlarda genel olarak organ, doku ve büyüme bozuklukları ile çevreye karşı ilgisizlik gözlemlenir. Enfeksiyonlara karşı direnç azalır. Yetişkinlerde ise aktivite ve verimde azalma, seksüel fonksiyonlarda gerileme olur. Vitaminler kolay parçalandıkları ve dışarıya atıldıkları için yüksek dozları vücut tarafından tolere edilebilir. Ancak A ve D vitaminleri çok fazla alındıklarında ağır bozukluklara hatta ölümlere neden olabilirler. Fazla vitaminden ileri gelen bu hastalık hali ise hipervitaminozis olarak adlandırılır (Ası, 1999).

Uzun yıllardan beri güneş ışığı vitamini olarak kabul edilen D vitamini, beyaz, kristal yapıda, oksidasyon ve ısıya karşı oldukça dayanıklıdır. Kemik

sağlığının korunmasında ve pek çok kronik hastalığın önlenmesinde önemli role sahiptir (Holick, 2005). Genel olarak D vitamini, ince bağırsaklardan kalsiyum emilimi ve bir hormon olarak kemik mineralizasyonu ve metabolizmasında, nöromusküler fonksiyonlarda ve kalsiyum fosfor dengesinin düzenlenmesinde önemli görevlere sahiptir (Kutsal ve ark., 2011). Bu sebeple de eksikliği metabolizma için oldukça önemlidir (Holick, 2005). D vitaminin en güçlü kaynağı ultraviyole B (UVB) ışınlarıdır. Ultraviyole ışınların deriyle temasının engellenmesi D vitamininin sentezini olumsuz etkiler. Günlük gereksinimin çok altında yada üzerinde alınması bazı bozukluklar meydana getirir. Hipovitaminoziste iskelet sisteminde anormallikler görülürken, hipervitaminoz durumunda özellikle kalpte ve böbreklerde arzu edilmeyen kalsifikasyonlarla, iştahsızlık, kilo kaybı, sindirim bozuklukları, kaslarda güçsüzlük ve sertlik, kardiyovasküler semptomlar gibi klinik pek çok belirti gözlemlenir.

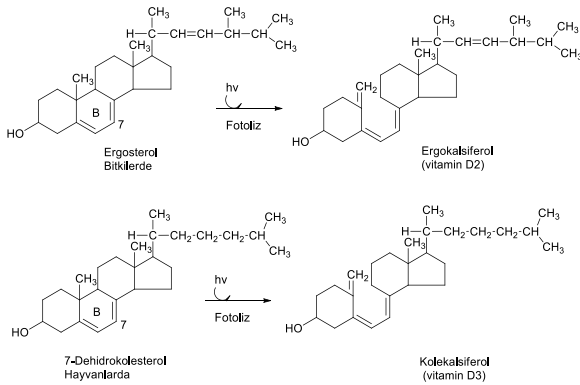
## D Vitaminin Yapısı ve Fonksiyonu

D vitamini, hormon benzeri fonksiyonları olan bir grup steroldür. Yağda çözünen vitaminler grubunda incelenir. D vitaminleri kalsiferoller olarak adlandırılırlar. D vitamini etkisi gösteren on kadar farklı bileşik bilinmektedir. Bunlar arasında biyolojik ve kimyasal yönden en önemlileri kolekalsiferol (D<sub>3</sub> vitamini) ve ergokalsiferol (D<sub>2</sub> vitamini)'dür (Öngen ve ark., 2008). Kolekalsiferol ve ergokalsiferol benzer yolla metabolize edildikleri için D vitamini olarak ortak isimle anılırlar (Hatun ve ark., 2003; Göçoğlu, 2010). Kolekalsiferol (vit D<sub>3</sub>) 290-315 nm dalga boyundaki ultraviyole ışınların etkisiyle deride, 7-dehidrokolesterol'den yapılır ve bu endojen üretim D vitamininin temel kaynağıdır (Glerup ve ark., 2000; Holick, 2005). Kolekalsiferol doğal bir D vitamindir. Ergokalsiferol (D<sub>2</sub> vitamini) bitkisel kaynaklı olup en çok maya ve mantarlarda bulunan ergosterolün morötesi ışınlarla maruz kalmasıyla oluşur. Ancak doğada pek fazla bulunmaz. Daha çok süt ürünlerinin



güçlendirilmesi amacıyla kullanılır. D<sub>2</sub> vitamini karbon 22 (C22) ile karbon 24 (C24) arasında çift bağa sahip olması ve karbon 24'te (C24) metil grubu içermesiyle D<sub>3</sub> vitamininden ayrılır. Bu durum D<sub>2</sub> vitaminin biyolojik etkinliğinin D<sub>3</sub>'e göre 3-10 kat daha az olmasına yol açar (Armas ve ark., 2004; Bikle, 2007).

D vitamininin diğer vitaminlerden farklı yönleri vardır. Bunlar özetlenecek olursa ilk olarak; vücutta sentezlenebilirler, deri altında bulunan 7-dehidrokolesterol güneş yada UV ışık altında D<sub>3</sub> vitaminine dönüşür (Holick, 2005). Bitkisel yağlarda bulunan ergosterolde aynı şartlarda D<sub>2</sub> vitamini haline dönüşür. İkinci olarak; aktif şekilleri koenzim değildir. Bunlar genellikle DNA'ya etkiyerek bazı proteinlerin meydana gelmesiyle etkinlik gösterirler. D<sub>3</sub> vitamininin aktifliği yoktur fakat bundan aktif formlar meydana gelebilir. Etkin olan şekli 1,25 dihidroksikalsiferol'dür. Bu form genel olarak hormon benzeri işlevlere sahiptir (Glerup ve ark., 2000).



**Şekil 1.** Ergosterol ve 7-dehidrokolesterolün, ergokalsiferol ve kolekalsiferole çevrilmeleri (Üstdal ve ark., 2003).

**Figure 1.** The conversion of ergosterol and 7-dehydrocholesterol to ergocalciferol and cholecalciferol (Ustdal et al., 2003).

D vitamininin metabolizmadaki başlıca görevi intestinal kalsiyum ve fosfor emilimini sağlayarak parathormon ile birlikte organizmanın kalsiyum ve fosfor dengesini düzenlemektir. İnsanlar ve hayvanlar için kalsiyum oldukça önemlidir. Hayvan vücudunun %1.4-2.6 kadarını kalsiyum oluşturur. Bu kalsiyumunda % 99 gibi büyük bir kısmı hidroksiapatit

halinde bulunur. Gelişmekte olan hayvanlar, gebe hayvanlar ve süt veren hayvanlar bol miktarlarda kalsiyum almak ve kullanmak zorundadırlar. Kalsiyum gereksinimi metabolizmada parathormonun salgılanmasına sebep olur. Bu sebeple parathormon D vitamini metabolizmasının düzenlenmesinde oldukça önemli bir yer tutar (Hatun ve ark., 2003). D vitamini yokluğunda kalsiyum emilimi %10-15 düzeyinde iken D vitamini varlığında bu oran %30-80 değerlerine kadar çıkmaktadır (Ataş ve ark., 2008). Dengeli bir beslenme için P (fosfor)'unda belli oranlarda alınması gerekmektedir. Bu oran insanlarda ve hayvanlarda farklılık gösterir. Genel olarak Ca/P oranı besinlerle alındığında 2/1-1/2 iken, tavuklarda bu oran 5/1-7/1 olarak bilinir (Ası, 1999).

D vitamininin aktif metaboliti olan, 1,25 dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D)<sub>3</sub>'ün genel fonksiyonları arasında plazma kalsiyum düzeyini sürdürmek yer alır. 1,25 dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> duodenumdan Ca, ileumdan ise P emilimini arttırmaktadır. Böbreklerdeki kalsiyum kaybını da önlemekte, kemik rezorpsiyonunu arttırmaktadır. 1,25 dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> aynı zamanda parathormon sentezini azaltmakta, insülin yapımını da arttırmaktadır (Öngen ve ark., 2008). Yapılan farklı çalışmalarda, D vitamininin, ratlarda yeterli miktarda kalsiyum ve fosfor emilimi için oldukça önemli olduğu, kemik gelişiminde olumlu yönde etkilediği tesbit edilmiştir (Harrison ve ark., 1958; Baylink ve ark., 1970). Norman ve Wong, (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, D vitamini ve onun aktif metaboliti olan 1,25 dihidroksikolekalsiferol'ün tavuk ve ratlarda kemik gelişimi için oldukça önemli olduğu, vitamini belirli dozda alan hayvanlarda büyüme oranının arttığı ve kalsiyum emiliminin düzeldiği belirlenmiştir. Yine Spencer ve ark. (1978) tavuklarda aktif kalsiyum transportu için 1,25 dihidroksikolekalsiferol'ün gerekli olduğunu, 1,25 dihidroksikolekalsiferol yönünden zengin diyetle beslenen tavuklarda kalsiyum transportunun arttığını tesbit etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada, D vitamini alımının bıldırcın ve tavuklarda seks hormonlarını önemli düzeyde etkilediği belirlenmiştir (Tanaka ve ark., 1976).

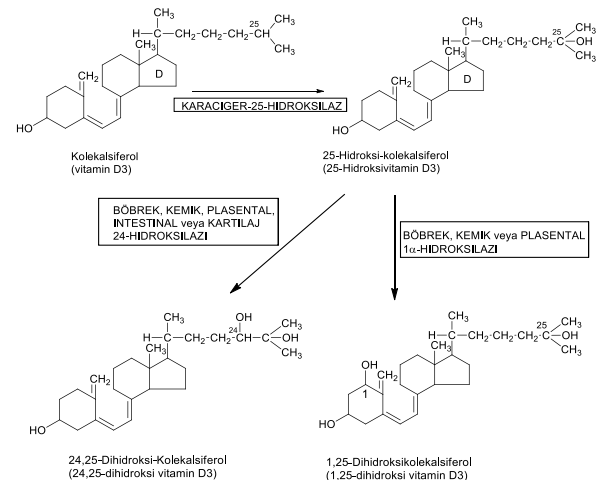
Tavuklarda ve kuşlarda D vitamini alımının yumurtlama kapasitesini arttırdığı ve yumurta verimini yükselttiği yapılan farklı çalışmalarda kanıtlanmıştır (Henry ve Norman, 1978; Mattila ve ark., 2004). Tavşanlar, ratlar ve kobaylar üzerine yapılan bir başka çalışmada ise her üç hayvan türünde de D vitamininin bağırsaklardan, aktif kalsiyum taşınması üzerine önemli derecede etkisinin olduğu belirlenmiştir (Schachter ve Rosen, 1959). Bu çalışmaların yanı sıra D vitamininin birçok kanser türüne karşı koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir (Dadalı, 2010). Aynı zamanda hiperparatiroidizm, koroner arter hastalığı, tüberküloza karşıda koruyucu etkileri bilinmektedir (Wilkinson ve ark., 2000; Wang ve ark., 2008; Talapatra ve Tymms, 2010).

### D Vitaminin Metabolizması

D<sub>2</sub> vitamini ve D<sub>3</sub> vitamini bağırsaklardan emildikten sonra, D vitamini bağlayıcı proteinler vasıtasıyla dolaşıma geçer. D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub> vitaminlerinin metabolizması benzerdir. Yağda çözündükleri için yağ dokusunda, deri, karaciğer, bağırsak gibi birçok dokunun lipid bileşenlerinde yer alırlar (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010). D<sub>2</sub> yada D<sub>3</sub> vitaminleri biyolojik olarak aktif değildirler. D vitamininin tüm şekilleri serumda D vitamini bağlayıcı proteine (DVBP) bağlanarak taşınır; sadece %1-3'ü serbest olarak bulunur (Özkan ve Döneray, 2011). Bağlayıcı proteinler ile karaciğere taşınan D vitamini karaciğerde 25-hidroksilaz enzimi (CYP27A1) aracılığıyla 25-hidroksi vitamin D'ye (25(OH)D) dönüştürülmektedir (Murray ve ark., 2004; Ongen ve ark., 2008). 25-hidroksilaz enzimi D vitamini sentezindeki en önemli enzim olup, 25-hidroksi vitamin D, vücudun D vitamin düzeyi hakkında en iyi bilgi veren parametresidir (Wilkinson ve ark., 2000; Holick, 2005; Özkan ve Döneray, 2011). 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub> dolaşımdaki D vitaminleri içerisinde en baskın olanıdır. Aynı zamanda 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>, karaciğer, iskelet kası ve yağ dokusunda en fazla depolanan formdur. 25-hidroksi vitamin D'nin önemli bir bölümü enterohepatik dolaşıma katılır. Bu dolaşımda meydana gelebilecek bir aksama D vitamini

yetersizliğine neden olur (Üstdal ve ark., 2003). 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub> de kanda D vitamini bağlayıcı bir protein olan globuline bağlanır. Böbreklere taşınan 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub>, 1- $\alpha$ -hidroksilaz enzimi (CYP27B1) tarafından 1. karbonundan hidroksilasyonla aktif metaboliti 1,25 dihidroksi kolekalsiferol veya 24. karbonunun hidroksilasyonu ile inaktif metaboliti, 24,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>'ü oluşturur. 1,25-dihidroksi kolekalsiferol, 24-hidroksilaz aktivitesini uyarıp 1- $\alpha$ -hidroksilaz aktivitesini engelleyerek kendi sentezini kontrol eder (Üstdal ve ark., 2003; Gürdöl ve Ademoğlu, 2010).

Son zamanlarda 1-alfa hidroksilaz enziminin, böbrek dışında bağırsak, epidermis, makrofajlar, prostat, meme, pankreas ve paratiroid bezinde de bulunduğu belirlenmiş bu sebeple böbrek dışı dokularda da 25-OH-D düzeylerinin yeterli düzeylerde olmasının aktif D vitamini üretimi için gerekli olduğu vurgulanmıştır. (Mutlu ve Hatun, 2011).



**Şekil 2.** D<sub>3</sub> vitamininin metabolizması (Murray ve ark., 2004).

**Figure 2.** The metabolism of vitamin D<sub>3</sub> (Murray et al., 2004).

### D Vitaminin Kaynakları

Normal koşullarda D vitamininin %90-95 kadarı güneş ışınlarının etkisi ile sentez edilir. Morina balığının karaciğer yağı, D vitamini bakımından oldukça zengindir. Bununla beraber, diğer yağlı balık türleri (somon, uskumru, sardalya vb.), süt, yumurta sarısı, tereyağı, tatlı patates, yulaf, brokoli, maydanoz,

yoşun ve mantar gibi besinler yüksek miktarda D vitamini içerir. Ancak hiçbir gıda maddesi günlük D vitamini ihtiyacını karşılayacak oranda vitamin ihtiva etmez (Fletcher ve ark., 2002; Ataş ve ark., 2008). En önemli kaynak güneş ışınlarının etkisiyle sentezlenen D vitamini'dir (Glerup ve ark., 2000).

#### D Vitamini Yetersizliği

D vitamini doğada geniş olarak yayılım göstermemekle birlikte üç temel yol ile alınır. Birincisi; D vitamini ya besinlerden direkt olarak alınır yada besinlere D vitamini eklenerek zenginleştirilir öyle alınır. İkincisi, D vitamini ihtiva eden maddeler, öncül molekül halinde ultraviyole ışığa maruz bırakılarak D vitamin içeriği bakımından zenginleştirilirler. Son olarak, direkt olarak derinin güneş ışığına maruz bırakılmasıyla D vitamini eksikliği önenebilir (Gözükara, 2011).

Hayvanlar genellikle yedikleri yemin kuru maddesinin kilosu başına 100-500 IU D vitaminine ihtiyaç duyarlar. Gebe hayvanlarda ve yüksek verimli hayvanlarda D vitaminine çok daha fazla ihtiyaç olduğu halde yetişkinlerde gereksinim alt sınırdadır. D vitamini eksikliği metabolizmada çeşitli aksamalara sebep olur. Rikets ve osteomalasiye yol açan kemik demineralizasyonu bilinen en önemli eksiklik belirtileridir (Champe ve ark., 2007). Latince'de bükülme eğilme anlamlarına gelen rikets büyüyen organizmanın hastalığı olup, ileri yaşlarda osteomalasi olaya eşlik eder (Wharton ve Bishop, 2003). Bağırsaklardan Ca emilimi yetersiz olduğunda, parathormon düzeyi artmakta, bu hormonun etkisiyle 1-hidroksilaz enzimi aktive olmakta ve 1,25 dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> düzeyi yükselmektedir. Bu durumda D vitamininin kemiklerden Ca mobilize edici etkisi ortaya çıkmaktadır. Organizmada serum Ca düzeyi daha önemli olduğu için, kemiklerden Ca mobilize edilerek serumdaki Ca düzeyi normal değerinde tutulmaya çalışılır. Bu şekilde ortaya çıkan Ca yada D vitamini yetersizliği sonucunda kemiklerdeki mineralizasyon bozulur ve rikets gelişir (Hatun ve ark., 2003; Need, 2006). Rikets kemiğin kollojen matriks oluşumunun devam etmesi fakat mineralizasyonunu

tam olmaması, yumuşak, esnek kemik oluşumu şeklinde de açıklanabilir (Champe ve ark., 2007). Rikets'te görülen en önemli klinik bulgular huzursuzluk, kas tonusunda azalma, iskelet ağrıları, yürümede aksama ve problemler, ile büyümede gerilemedir (Öngen ve ark., 2008).

Osteomalasi ise erginlerde görülen, kemik hastalığıdır. Bu hastalıkta kemikler yumuşamış ve eğilip bükülecek hale gelmiş olup kalsiyum ve fosfat oranı değişmiştir. Kemik yapısına magnezyumun girişi artmıştır (Gözükara, 2011). Yine kemiklerde zayıflama ve kırık riskinin oldukça fazla olduğu bir hastalık olan osteoporozda, D vitamini ve Ca eksikliği neticesinde ortaya çıkar (Fletcher ve ark., 2002).

Rikets ve osteomalasi kedi ve köpeklerde de sıklıkla görülür. Kedi ve köpeklerde D vitamini eksikliği, temel kemik maddesinde kireçlenme bozukluğuna ve dolayısıyla kemiklerin direnç kaybına bükülebilecek kadar yumuşamalarına yol açar. Yavru kedi ve köpeklerde kemiklerin organik yapısı çok hızlı şekillendiği halde kemiğe sertlik veren kalsiyum ve fosfor birikimi gecikir. Bu sebeple kemikler kolayca kırılır ve deformasyon gözlenir. İleri derecede D vitamini yetersizliği olan kedi ve köpeklerde paratroid bezi büyümesi, sindirim sisteminde, yaygın kanamalar ve gözlerde görme bozuklukları ortaya çıkabilir.

Yapılan pek çok çalışmada D vitamini yetersizliğinde Tip I diabet, multipleskleroz, romatoid artrit, osteoartrit, Crohn hastalığı, çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda artış gözlemlenmiş aynı zamanda pek çok kanser türünde de D vitamini yetersizliğine bağlı olarak artış tesbit edilmiştir (Mutlu ve Hatun, 2011). Vitamin D'den fakir diyet ile beslenen hayvanların diyetin ikinci ayında pankreatik insülin sekresyonunda azalma ve bu deney hayvanlarında glukoz intoleransının geliştiğinin gösterilmiş olması D vitamininin endokrin pankreas için gerekli olduğuna işaret etmiştir (İyidir ve Altınova, 2012). Norman ve ark. (1980) tarafından yapılan bir çalışmada D vitamini eksikliğinin, özellikle ratlarda pankreastaki endokrin fonksiyonları etkileyerek, insülin salınımını inhibe ettiği belirlenmiştir. Tip 1 diyabet için hayvan modeli olan NOD farelere yüksek

doz aktif D vitamini verilmesinden sonra insülitis ve diyabet gelişimini azaldığı belirlenmiştir. Streptozotosin ile diyabet geliştirilmiş farelerde 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> kullanımı ile diyabet ilerlemesinin yavaşladığı gösterilmiştir (İyidir ve Altınova, 2012). Yine D vitamini yetersizliğinin, özellikle ratlarda üreme kapasitesini ve verimini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (Halloran ve Deluca, 1980).

#### D Vitamini Fazlalığı

Yüksek miktarlarda D vitamini alınması toksik etki gösterir. Özellikle serumda kalsiyum ve fosfat düzeyi yükselir. Bu ise kalsiyumun böbreklerde ve kan damarlarında birikmesine sebebiyet verir. Kaslarda zayıflık, gastrointestinal bozukluklar, böbreğin görevini tam olarak yerine getirememesi gibi problemler gözlemlenir (Ası, 1999). Fazlalık durumu eklemelerde ve yumuşak dokularda kireçlenmeye neden olur.

#### SONUÇ

Bitkisel kökenli ergosterol (vit-D<sub>2</sub>) ve hayvansal kökenli olup deride 7-dehidrokolesterolden türeyen kolekalsiferol (vit-D<sub>3</sub>) olarak incelenen, steroid bir hormon olarak kabul edilen D vitamini, kalsiyum ve fosfor metabolizmasında görev alması, kemik mineralizasyonunu sağlaması ve koruması, parathormon salınımını önlemesi gibi hayati fonksiyonlarının yanı sıra, pek çok hastalık ve kanser türüne karşı da koruyucu etkilerinin belirlenmesi sebebiyle insan ve hayvanlar için büyük önem taşımaktadır. Bu sebeple, D vitamini üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır.

#### KAYNAKLAR

Armas LA., Hollis BW., Heaney RP., 2004. Vitamin D<sub>2</sub> is much less effective than vitamin D<sub>3</sub> in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89, 5387-5391.

Ası T., 1999. Tablolarla Biyokimya I-II, Nobel Tıp Kitabevi, Ankara.

Ataş A., Çakmak A., Soran M., 2008. D Vitamin

Metabolizması ve Rikets Hastalığı. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 4, 1-7.

Baylink D., Stauffer M., Wergedal J., Rich C., 1970. Formation mineralization and resorption of bone in vitamin D deficient rats. *The Journal of Clinical Investigation*, 49, 1122-1134.

Bikle DD., 2007. What's new in vitamin-D: 2006-2007. *Current Opinion Rheumatology*, 19, 383-388.

Champe PC., Harvey RA., Ferrier DR., 2007. *Lippincotts Illustrated Reviews; Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri*.

Dadalı M., 2010. The significance of Vit- D, Lycopene and dietary fat in the prevention of prostate cancer. *Türk Urology Seminars*, 1,177-182.

Fletcher RH., Kathleen M., Fairfield MD., 2002. Vitamins for chronic disease prevention in adults. *The Journal of the American Medical Association*, 287, 3127-3129.

Glerup H., Mikkelsen K., Poulsen L., Hass E., Overbeck S., Thomsen J., Charles P., Eriksen F., 2000. Commonly recommended daily intake of vitamin D is not sufficient if sunlight exposure is limited. *Journal of Internal Medicine*, 247, 260-268.

Göçoğlu ŞE., 2010. Vitaminler ve Diş Gelişimine Etkileri. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı. Bitirme Tezi İzmir.

Gözükara EM., 2011. Biyokimya. Beşinci Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.

Gürdöl F., Ademoğlu E., 2010. Biyokimya. İkinci baskı. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.

Halloran BP., Deluca HF., 1980. Effect of vitamin D deficiency of fertility and reproductive capacity in the female rat. *Journal of Nutrition*, 110, 1573-1580.

Harrison HC., Harrison HE., Park EA., 1958. Effect of vitamin D in rats fed diets adequate in both calcium and phosphorus. *American Journal of Physiology*, 192, 432-436.

Hatun Ş., Bereket A., Çalikoğlu AS., Özkan B., 2003. Günümüzde D vitamini yetersizliği ve rikets. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*,46, 224-241.

Henry HL., Norman AW., 1978. Vitamin D: two dihydroxylated metabolites are required for normal chicken egg hatchability. *Science*, 201,

- 835-837.
- Holick MF., 2005. The vitamin D epidemic and its health consequences. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 22, 2739-2747.
- İyidir ÖT., Altınova AE., 2012. Vitamin D ve diabetes mellitus. *Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Dergisi*, 16, 89-94.
- Kutsal GY., Özgüçlü E., Karahan S., 2011. Postmenapozal Osteoporotik Kadınlarda Giyim Tercihlerinin D vitamini ve Kemik Mineral Dansiteleri Üzerine Etkisi. *Türk Osteoporoz Dergisi*, 17, 85-88.
- Mattila P., Valaja J., Rossow L., Venalainen E., Tupasela, T., 2004. Effect of vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> enriched diets on egg vitamin D content production and bird condition during an entire production Period. *Poultry Science*, 83, 433-440.
- Munzuroğlu Ö., Karataş F., Gür N., 2000. Işgın (Rheum ribes L.) bitkisindeki A, E ve C vitaminleri ile selenyum düzeylerinin araştırılması. *Türkiye Biyoloji Dergisi*, 24, 397-404.
- Murray RK., Granner DK., Mayes PA., Rodwell VW., 2004. *Harper Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri*, 25. Baskı.
- Mutlu YG., Hatun Ş., 2011. Perinatal D vitamini Yetersizliği. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 54, 87-98.
- Need AG., 2006. Bone resorption markers in vitamin D in sufficiency. *Clinica Chimica Acta*, 368, 48-52.
- Norman AW., Frankel JB., Heldt AM., Grodsky GM., 1980. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science*, 209, 823-825.
- Norman AW., Wong RG., 2011. Biological activity of the vitamin D metabolite 1,25 Dihydroxycholecalciferol in chickens and rats. *Journal Nutrition*, 102, 1709-1718.
- Öngen B., Kabaroğlu C., Parıldar Z., 2008. D vitamininin biokimyasal ve laboratuvar değerlendirmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 6, 23-31.
- Özkan B., Döneray H., 2011. D vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 54, 99-119.
- Padayatty SJ., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee JH., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta KS., Facn MD., Levine M., 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 18-35.
- Park JH., Dorrestein PC., Zhai H., Kinsland C., Mclafferty FW., Begley TP., 2003. Biosynthesis of the Thiazole Moiety of Thiamin Pyrophosphate. *Biochemistry*, 42, 12430-12438.
- Schachter D., Rosen SM., 1959. Active transport of Ca<sup>45</sup> by the small intestine and its dependence on vitamin D. *American Journal of Physiology*, 196, 357-362.
- Spencer R., Charman M., Wilson PW., Lawson EM., 1978. The relationship between vitamin D-stimulated calcium transport and intestinal calcium binding protein in the chicken. *Journal Biochemistry*, 170, 93-101.
- Talapatra I., Tymms DJ., 2010. A case of proximal myopathy resulting from multiple causes. *European Journal of General Medicine*, 7, 429-432.
- Tanaka Y., Castillo L., Deluca HF., 1976. Control of renal vitamin D hydroxylases in birds by sex hormones. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 708, 2701-2705.
- Üstdal M., Karaca L., Türköz Y., Testereci H., Kuş S., Paşaoğlu H., 2003. *Biyokimya. Medipres Matbaacılık Ltd. Şti. Malatya*.
- Wang T., Pencia MJ., Booth SL., Jacques PF., Ingelson E., Lanier BS., Benjamin EJ., Agustino BD., Wolf M., Vasan S., 2008. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 117, 503-511.
- Wharton B., Bishop N., 2003. Ricets. *The Lancet*, 362, 1389-1400.
- Wilkinson RJ., Llewelyn M., Toossi Z., Patel P., Pasvol G., Lalvani A., Wright D., 2000. Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms on tuberculosis among Gujarati Asians in west London: a case-control study. *The Lancet*, 355, 618-621.

## YAZARLARA BİLGİ

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.
2. Bu dergide, Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmış ve daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış Temel Veteriner Bilimleri (Anatomi, Biyokimya, Fizyoloji, Histoloji, Mesleki Etik ve Deontoloji), Klinik Öncesi Veteriner Bilimleri (Farmakoloji ve Toksikoloji, Mikrobiyoloji, Parazitoloji, Patoloji, Viroloji), Klinik Veteriner Bilimleri (İç hastalıkları, Cerrahi, Doğum ve Jinekoloji, Dölerme ve Suni Tohumlama), Zootekni ve Hayvan Besleme Bilimleri (Biyostatistik, Genetik, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları, Hayvancılık İşletme Ekonomisi, Zootekni), Hayvansal Orjinli Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, egzotik hayvanlar bilimi ve laboratuvar hayvanları bilimi alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu ve davetli veya editörün onayı alınmış derlemeler yayımlanır.
3. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne yayımlanması amacıyla gönderilen hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda; makalenin Materyal ve Metot kısmında "Yerel Etik Kurulu onayı alınmıştır" veya "Yerel Etik Kurulu ilkelerine uyulmuştur" ifadesi yer almalıdır. Eğer yerel etik kurulu onayı alınmış ise Yazar(lar) etik kurul onayı aldıkları kurumu ve onay numarasını belirtmelidirler. Tez çalışmalarından özetlenen makalelerde ise etik kurul kararı aranmaz.
4. 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.
5. Makaleler değerlendirme için en az iki danışmana gönderilir. Makalenin yayına kabulü, danışmanların ve dergi editörlüğünün kararına bağlıdır.

## MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. Makaleler, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, şekil, tablolar ve kaynaklarda dahil olmak üzere sayfa sayısı orijinal bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde 16, olgu sunumu gibi kısa bilimsel çalışmalarda ise 5 sayfayı geçmemelidir.
2. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, Calibri karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.
3. Makaleye satır numaraları (makalenin 2. sayfasından başlamak üzere sürekli olacak şekilde) ve sayfa numaraları (sayfa altında ve ortalı) eklenmelidir.
4. Makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje, vb.) makale başlığının sonuna üst simge olarak \* işareti konulup makale başlığı altında italik yazıyla açıklanmalıdır.
5. Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

### **Orijinal Bilimsel Araştırma Makaleleri İçin:**

**Birinci Sayfa:** makalenin birinci sayfası başlık, yazar isimleri ve adresleri, yazarların e-posta adresleri, sorumlu yazar iletişim bilgileri ve eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgiden oluşmalıdır:

**Başlık:** Türkçe ve İngilizce başlıklar sadece ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Makalenin dili Türkçe ise önce Türkçe sonra İngilizce başlık, makalenin dili İngilizce ise önce İngilizce sonra Türkçe başlık yazılmalıdır.

**Yazar İsimleri ve Adresleri:** Yazar(lar)'ın adı ve soyadının (akademik ünvanlı) sadece baş harfleri büyük ve başlığın altına ortalı gelecek şekilde yazılmalıdır. Sorumlu yazar (\*) ile işaretlenmeli, yazarların isminin sağ üst köşesine sayı eklenmeli ve bu sayılar adresler bölümünde kullanılmalıdır. Yazarların adresinde; bağlı olduğu kurum, birim, şehir ve Ülke belirtilmelidir.

**Yazarların e-posta Adresleri:** makalede ismi bulunan tüm yazarların ismi ve e-posta adresleri yazılmalıdır.

**Sorumlu Yazar İletişim Bilgileri:** Makalenin sorumlu yazarına ait isim-soyisim, e-posta, adres, telefon, GSM ve fax numaralarını içeren bilgiler yazılmalıdır.

**Makale ile İlgili Açıklayıcı Bilgi:** Eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje vb.) birinci sayfanın sonunda italik yazıyla açıklanmalıdır.

**İkinci Sayfa:** Makalenin ikinci sayfası Türkçe özet ve anahtar kelimeler ile İngilizce özet ve anahtar kelimeleri içermelidir. Makale yazım dili Türkçe ise öncelikli olarak Türkçe özet ve anahtar kelimeler; eğer makale yazım dili İngilizce ise öncelikli olarak İngilizce özet ve anahtar kelimeler sunulmalıdır:

**Özet:** Kısaca amaç, materyal, metot, bulgular ve sonuçları içermelidir. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 kelime arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Anahtar kelimeler “Türkiye Bilimleri Terimleri” nden seçilmelidir (<http://www.bilimterimleri.com/tr-index.html>). En fazla 5 adet olmalıdır. Türkçe anahtar kelimeler Türkçe’ye göre, İngilizce anahtar kelimeler İngilizce’ye göre alfabetik olarak sıralanmalıdır. Her anahtar kelime arasına (,) işareti konulup, sonuncu anahtar kelimedenden sonrada (.) işareti konulmalıdır.

**Üçüncü Sayfa:** Makale üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ, MATERYAL ve METOT, BULGULAR, TARTIŞMA ve SONUÇ ve KAYNAKLAR bölümleri halinde tamamlanmalıdır. Bulgular ve tartışma birlikte verilebilir. Gerekli olduğu takdirde, teşekkür de eklenebilir. Bölüm başlıkları büyük harflerle yazılmalıdır. Bölümlere ait alt başlıklar yalnız ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Tüm başlıklar koyu tonda ve 12 punto ile satırbaşı hizasında yazılmalıdır.

**İstatistiksel Analiz bilgileri:** makalenin MATERYAL ve METOT bölümünün sonunda “İstatistiksel Analiz” başlığı altında verilmelidir.

**Birimler ve Kısaltmalar:** Her bir kısaltmanın açılımı metinde ilk geçtiği yerde verilmelidir. Birimler ve ölçülerde Uluslar Arası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır. Cins ve tür isimleri italik olarak yazılmalıdır. Makale içerisinde kullanılan rakamsal ve istatistiki verilerde nokta kullanılmalıdır (örnek: 44.5; 0.82; % 97.7; P<0.01 vb.).

**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 metin içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Örn; 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.

**Sonuç:** Makaleye ait elde edilen/varılan sonuç, TARTIŞMA ve SONUÇ kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

#### **Olgu Sunumları İçin:**

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 120’den daha az olmamalı ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ, OLGU SUNUMU (olgu sunumu başlığı altında materyal, metot ve bulgulardan bahsedilmelidir) TARTIŞMA ve SONUÇ ve KAYNAKLAR şeklinde tamamlanmalıdır.

Olgu sunumu içerisinde eğer varsa İstatistiksel analiz bilgileri, birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Olgu sunumuna ait elde edilen/varılan sonuç, TARTIŞMA ve SONUÇ kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

<http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/article/view/7306> adresindeki olgu sunumu örnek olarak incelenebilir.

#### **Derlemeler İçin:**

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Derlemeler için hazırlanan özet derlemenin konusu hakkında bilgi ve derlemenin amacından oluşmalıdır.

Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Derleme üçüncü sayfadan itibaren giriş ile başlamalı, yazar/lar tarafından belirlenecek ara başlıklarla devam etmeli, Sonuç ve kaynaklar ile tamamlanmalıdır.

Derleme içerisinde eğer varsa birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Derlemeye ait sonuç, KAYNAKLAR bölümünden hemen önce SONUÇ başlığı altında belirtilmelidir.

<http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/article/view/9138> adresindeki derleme örnek olarak incelenebilir.

#### **Kaynaklar**

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kaynaklar aşağıda belirtildiği şekilde sunulmalıdır:

#### **Metin içerisinde:**

Türkçe hazırlanan makalelerde çok yazarlı kaynaklar “ve ark.,” iki yazarlı kaynaklar “ve” ile İngilizce hazırlanan makalelerde ise çok yazarlı kaynaklar “et al.,” iki yazarlı kaynaklar “and” ile bildirilmelidir (Örnek: Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al., 1998; Kara et al., 2009). Kaynak bildirimleri parantez içerisinde ve tarih sıralamasına göre yapılmalıdır. Örnek (Warris, 1984; Tume ve Shaw, 1991; Tennessen ve ark., 1998; Kara ve ark., 2009). Eğer bir kaynak yazar ismi parantez içerisinde değil de metin içerisinde belirtilerek kullanılacaksa “Tekinşen ve ark. (1990) ..... olduğunu bildirmiştir” şeklinde kullanılmalıdır. Aynı yazar ve yıla sahip kaynaklarda ayırıcı harfler kullanılmalıdır (Örnek; Akbulut, 1991a, 1991b).

#### Kaynaklar Bölümünde:

Kaynaklar alfabetik ve kronolojik dizin dikkate alınarak sıralanmalıdır. Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin önerdiği uluslararası kısaltılmış şekli kullanılmalıdır.

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., 330-335, Woodhead Publ., Cambridge.

Kaynak kitapta bir bölüm ise; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, 6th ed., 230-250, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Kaynak bir tez ise; Aktaş MS., 2005. Köpeklerde antibiyotiklerin neden olduğu ishallerde probiyotiklerden *Saccharomyces boulardii*'nin etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.

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, 2012. Epithelial-cells, <http://www.cellapplications.com>. [Erişim: 20.03.2012].

#### **MAKALENİN GÖNDERİLMESİ**

Makale online sistem (<http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/index>) veya dergi e-postaları aracılığıyla ([vetdergisi@atauni.edu.tr](mailto:vetdergisi@atauni.edu.tr) yada [atavetderg@hotmail.com](mailto:atavetderg@hotmail.com)) gönderilebilir.

Orjinal makale ve Tablolar.doc uzantılı olmalıdır.

Şekiller (grafik, fotoğraf, şekiller ve resim) JPEG formatında 300 DPI çözünürlükte ayrı dosya halinde gönderilmelidir.

#### **DERGİ BASKISI**

Baskı aşamasında olan çalışmalar en kısa sürede dergimize ait WEB alanına eklenecektir.

Kabul edilen çalışmalar **ücretsiz** basılacaktır.

Yazarlara ayrı baskı gönderilmeyecektir.



## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

1. Atatürk University Journal of Veterinary Sciences is a refereed scientific publication organ of Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. The abbreviation of the journal's title is "Atatürk University J. Vet. Sci."
2. Original research papers, case reports and invited or Editor-approved reviews to be submitted should be prepared either in Turkish or in English, must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal, within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments, i.e. Basic Veterinary Sciences (Anatomy, Biochemistry, Physiology, Histology, Occupational/Professional Ethics and Deontology), Preclinical Veterinary Sciences (Pharmacology and Toxicology, Microbiology, Parasitology, Pathology, Virology), Clinical Veterinary Sciences (Surgery, Internal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Reproduction and Artificial Insemination), Animal Science and Nutritional Sciences (Biostatistics, Genetics, Animal Nutrition and Nutritional Disorders, Animal Enterprises Economy, Animal Science), Animal-Originated Food Hygiene and Technology, with, exotic animal science and laboratory animals, are published in this journal.
3. For scientific studies based on the animal experiments to be published within the Atatürk University Journal of Veterinary Sciences, the statements of "The approval from the Local Board of Ethics has been obtained" (Author(s) should give the name of foundation and number of approval) or "The instructions of general ethics have been complied with" are warranted within the Materials and Methods section. However, no such warranty is required for those manuscripts summarised from the studies of theses.
4. 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).
5. 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.

## 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 for original scientific researches and reviews or 5 pages for short scientific studies such as case reports.
2. Manuscript should be prepared using Microsoft Word 6.0 or upper versions, in Calibri characters with 12 point typing size.
3. Line numbers (be started from the 2<sup>nd</sup> page onwards) and page numbers (at the middle of the bottom of the page) should be given in the manuscript.
4. Details (thesis, project, etc.) related with the manuscripts should be given at the end of the title of the manuscript with the sign of superscript (\*) with further explanation below the title in italic format.
5. Trademarks of substances (materials) and products of the subject of the study should not be used.

### For Original Scientific Research Manuscripts:

**First page:** The first page of the manuscript should contain title, authors' name-surname and addresses, e-mail addresses of the authors, corresponding authors' explanatory details related with the manuscripts:

**Title:** Titles in Turkish and English should be written in small letters with only the first letter to be in capital. In case of the Turkish language of the main text, firstly titles in Turkish then in English should be given, while the opposite should be given for manuscripts written in English.

**Names of authors and addresses:** The first letters of name and surnames (without academic titles) of author(s) should be written in capital and aligned at the middle below the title. Corresponding author (\*) should be pointed, a value should be added as a superscript at the right and these values should be used in the section of addresses. In that section, the body/authority, unit/department, city and country of the authors should be described.

E-mail addresses of the authors: All the names and e-mail addresses of authors mentioned within the manuscript should be written.

Contact details of the corresponding author: The name-surname, e-mail, address, phone, mobile and fax numbers of the corresponding author should be written.

Explanatory details of the manuscripts: If any, the explanatory details (thesis, project, etc.) should be written in *italic* letters at the end of the first page.

**Second page:** The second page of the manuscript should contain summary in Turkish and English with key words each. If the language of the main text is in Turkish, the summary and the key words should first be in Turkish while the opposite should be given for those manuscripts written in English:

Summary: Briefly, it should contain the aim, material, method, results and conclusions. The number of word to be used should be between 170-200 words and be written in single-space.

Key words: The number should be 5 at maximum in the alphabetic order of the language used either in Turkish or in English. Between each of the words, a comma (,) sign should be put while a full stop (.) sign should be put at the end of the last one.

**Third page:** From this page onwards, the manuscript should continue with the sections of INTRODUCTION, MATERIALS and METHODS, RESULTS, DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES in the following order. The sections of results and discussion may be given together. A section of acknowledgement may also be added, if needed. Section titles should be written in capital letters. Sub-headings of the sections should be written with the first letters in capital only and aligned with the beginning of paragraph. All the headings should be written in black 12-point typing-size and aligned with the beginning of paragraph.

Data from Statistical analyses: This section should be given at the end of MATERIALS and METHODS section and under the title of "Statistical Analysis".

Units and Abbreviations: The meaning of each abbreviation should be given where it appears first. For units and measurements, International Standard units (SI-system) should be used. The names of genus (breeds) and species should be written in italic style. For numerical and statistical values, full stop (.) sign should be used (e.g. 44.5; 0.82; 97.7 %;  $P < 0.01$ , etc.).

Tables and Figures: Figures, graphics, photos and pictures/plates 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 (e.g. 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 used within tables and figures should be explained below them.

Conclusion: The ultimate result obtained should be described as "In conclusion,..." in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

**For Case Reports:**

The first and second pages should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The number of words to be used in summary should not be less than 120 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, INTRODUCTION, CASE REPORT (materials, methods and results should be mentioned under the title of case report) should be followed by DISCUSSION and CONCLUSION and REFERENCES.

If any, data from the statistical analysis, units and abbreviations, tables and figures should be presented as given for scientific research manuscripts.

For case report, the ultimate result obtained should be described as “In conclusion,...” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

The case report available at <http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/article/view/7306> web address may be checked as an example.

#### **For reviews:**

The first and second pages of reviews should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The summary should involve data on the subject and aim of the review. The number of words used in summary should be between 170-200 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, reviews should start with introduction, continue with subheadings to be determined by the author(s) and be completed with CONCLUSION and REFERENCES.

If any, the units and abbreviations, tables and figures within the review should be presented as given for scientific research manuscripts.

For reviews, the ultimate result should be described as CONCLUSION section in a single paragraph just before the section for REFERENCES.

The review available at <http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/article/view/9138> web address may be checked as an example.

#### **References**

Regardless of the type of manuscript (original research paper, case report, review), references should be given, as follows:

##### For Text section:

For manuscripts prepared in Turkish, the references with numerous (more than two) authors should be given as “ve ark.,” while those with two authors as “ve”, while for manuscripts prepared in English, the same abbreviations should be given as “et al.,” and “and”, respectively (e.g. Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al., 1998; Kara et al., 2009). Reports of references should be given in parenthesis and enlisted in chronological order. (e.g. Warris, 1984; Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al., 1998; Kara et al., 2009). If a reference is to be used within the text, instead of within the parenthesis, it should be given as “Tekinşen et al. (1990) reported that...”. For references of the identical author and publication year, separate letters should be used (Akbulut, 1991a, 1991b).

##### For References section:

References should be enlisted according to the alphabetical and chronological order. For writing the scientific journals, its international abbreviation recommended by the journal should be used.

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*. 6<sup>th</sup> edn., 330-335, Woodhead Publ., Cambridge.

For chapters of a book; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In “*Textbook of Veterinary Internal Medicine*”, Ed., SJ Ettinger, 6<sup>th</sup> edn., 230-250, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

For theses; Aktas MS., 2005. Efficacy of *Saccharomyces Boulardii* as a probiotic in Dogs with lincomycin induced diarrhoea. Ankara University, Graduate School Health Science, Turkey.

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, 4<sup>th</sup> edn., SAS Institute, Cary.

For web-based references: Anonymous, 2012. Epithelial-cells, <http://www.cellapplications.com>. [Reached: 20.03.2012].

#### **MANUSCRIPT SUBMISSION**

Manuscript can be submitted either by on-line system (<http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/index>) or by journals' e-mail addresses ([vetdergisi@atauni.edu.tr](mailto:vetdergisi@atauni.edu.tr) or [atavetderg@hotmail.com](mailto:atavetderg@hotmail.com)).

The file names of original manuscripts and tables should involve a ".doc" extension.

Figures (graphs, photos, figures and pictures/plates) should be submitted, as a separate file, in JPEG format with 300 DPI resolutions.

#### **JOURNAL'S PRESS**

Articles in press will be added into the web page of the journal immediately.

Articles accepted for publication will be published free of charge.

No offprints will be sent to the authors.

---

# ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ

## YAYIN HAKLARI DEVRİ SÖZLEŞMESİ

---

**Makale Türü:**  Araştırma  Derleme  Olgu Sunumu  Diğer

**Makale Başlığı:** .....

.....

Biz türü ve başlığı yukarıda belirtilmiş makalenin yazarları olarak; Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi yazım ve yayın şartlarını bilerek ve kabul ederek hazırlayıp yayımlanması dileğiyle Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne gönderdiğimiz makalenin orijinal olduğunu, kısmen veya tamamen daha önce yayımlanmadığını veya eşzamanlı olarak başka bir yayın kuruluşuna gönderilmediğini, makale yayımlandıktan sonra ortaya çıkabilecek her türlü bilimsel ve etik sorumluluğun bize ait olduğunu ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nin hiçbir sorumluluk taşımayacağını, danışman ve dergi editörü tarafından gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı tarihten itibaren Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ederiz.

Bununla birlikte yazarların telif hakkı dışında kalan patent vb. tescil edilmiş hakları, yazarların kitap ve dersler gibi çalışmalarında makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanım hakkı, ticari amaçla kullanmamak üzere makaleyi çoğaltma hakkı saklıdır.

**Yazarın Adı ve Soyadı**  
**(Makaledeki İsim Sırasına Göre)**

**İmza**

**Tarih**

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8

### **Sorumlu Yazar**

Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

**Not:** Lütfen formu doldurduktan sonra e-posta adreslerimizden herhangi birine gönderiniz.

### **DERGİ ADRESİ**

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü, 25240 Kampüs/ERZURUM-TÜRKİYE

Tel: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-posta: [vetdergisi@atauni.edu.tr](mailto:vetdergisi@atauni.edu.tr)/ atavetderg@hotmail.com

---

**ATATÜRK UNIVERSITY JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES**

**COPYRIGHT DECLARATION FORM**

---

**Type of Manuscript:** ( ) Research ( ) Review ( ) Case Report ( ) Other

**Title of Manuscript:**.....  
.....

We, as the authors of manuscript having type and title aforegiven, declare that; i) this manuscript submitted to The Editor of Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication, as prepared in complying with the instructions for authors, is original, ii), it has not been published partially or totally or submitted synchronously to other publishing body, iii) all the possible scientific and ethical responsibilities, without any further responsibility of The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences at all, following the publication of manuscript are belong to us, iv) we transfer all the copyrights along with the corrections recommended by the advisor and Editor to The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences following the date of publication of the manuscript.

However, other than the copyright conditions described; i) the authenticated rights (such as patent), ii) the right of use of the manuscript, totally or partially, for scientific activities such as books and lectures, with no charge and iii) dissemination of the manuscript by the authors without commercial purposes are all reserved.

**Name and Surname of the author  
(in the manuscript's order)**

**Signature**

**Date**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

**Corresponding Author**

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:.....

Signature:.....

**Note:** Please send the form to either of our e-mail addresses after filling in the blanks.

**JOURNAL'S ADDRESS**

Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences, The Editor of Atatürk University J. Vet. Sci., 25240-Campus/Erzurum-TURKEY

Phone: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-mail: [vetdergisi@atauni.edu.tr](mailto:vetdergisi@atauni.edu.tr) or [atavetderg@hotmail.com](mailto:atavetderg@hotmail.com)

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Sayfa /  
Page

Araştırma Makaleleri / Research Articles

- Nebahat POLAT, Mehmet GÜL.** Aflatoxin Levels in Roughage, Concentrates, Compound Feed and Milk Samples from Dairy Farms in Erzurum Province (*Erzurum Bölgesinde Süt Sığırları İşletmelerinden Alınan Kaba, Konsantre, Karma Yem ve Süt Örneklerinde Aflatoksin Düzeyleri*). 149-156
- Seyit Ali BİNGÖL, Nurhayat YECAN GÜLMEZ, Turgay DEPREM, Serap KORAL TAŞCI, Şahin ASLAN.** Histologic and Histometric Examination of Spleen in Geese (*Anser anser*) (*Kaz (Anser anser) Dalak Dokusunda Histolojik ve Histometrik İnceleme*). 157-162
- Mehmet Akif YÖRÜK , Taylan AKSU, Mehmet GÜL.** Farklı Kuru Madde Düzeyi Esasına Göre Hazırlanan Şeker Pancarı Posası Silajlarının, Silaj Kalitelerinin ve Rumen Yıkılabilirliklerinin Tespit Edilmesi (*Determination of Silage Quality and Ruminant Dry Matter Degradability of Sugar Beet Pulp Silages Ensilaged on The Basis of Different Dry Matter Levels*). 163-172
- Fatma GÜR, Şükrü BEYDEMİR, Kenan GÜMÜŞTEKİN, Nuri BAKAN.** Ketoprofenin 6-Fosfoglukonat Dehidrogenaz Aktivitesi Üzerine *In Vitro* ve *In Vivo* Etkisinin Araştırılması (*In Vitro and In Vivo Effect of Ketoprofen on 6-Phosphogluconate Dehydrogenase Enzyme Activity*). 173-179
- Bahat COMBA, Leyla MİS, Arzu COMBA, Ali ÇINAR, Abuzer TAŞ.** Deneysel Olarak Diabet Oluşturulmuş Ratlarda Yara İyileşmesinde Sildenafil Sitratın Bazı Hematolojik Parametrelere ve Mineral Maddelere Etkisi (*The Effects of Sildenafil Citrate on Some Haematological Parameters and Mineral Matters in Wound Healing of Rats Created Experimental Diabetes*). 180-186
- Birten EMRE, Ömer KORKMAZ, Abuzer Kafar ZONTURLU.** Sütçü İneklerde Ovsynch Protokolünde İkinci GnRH Uygulamasının Geciktirilmesinin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi (*The Effect of Delaying the Administration of Second GnRH in the Ovsynch Protocol on Pregnancy Rate in Dairy Cows*). 187-193

Olgu Sunumları / Case Reports

- Ekrem Çağatay ÇOLAKOĞLU, Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU, Hadi ALİHOSEİNİ.** Shar-pei Irkı Bir Köpekte Kutanöz Mucinosis ve Mastositozis (*Cutaneous Mucinosis ve Mastocytosis in a Shar-pei Breed Dog*). 194-197

Derlemeler / Reviews

- Orçun CANNAZİK, Bülent POLAT.** Kök Hücre ve Veteriner Hekimlikte Uygulama Alanları (*Stem Cells and Their Use in Veterinary Medicine*). 198-205
- Ali Doğan ÖMÜR.** Dişi Genital Kanalda Sperm Hücrelerinin İlerlemesini Sağlayan Faktörler (*The Factors Ensuring the Progress of Sperm Cells in the Female Genital Tract*). 206-212
- H. Turan AKKOYUN, Mahire BAYRAMOĞLU, Suat EKİN, Fikret ÇELEBİ.** D Vitamini ve Metabolizma İçin Önemi (*Vitamin D and Its Importance for the Metabolism*). 213-219