



Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

Journal of Turkish Veterinary Medical Society

Cilt / Volume : 88• Sayı / Issue : 2 • Yıl / Year : 2017

88(2)



Veteriner Hekimler Derneği Dergisi
Journal of Veterinary Medical Society

Cilt / Volume: 88 • Sayı / Issue: 2 Yıl / Year: 2017

Altı ayda bir yayımlanır / *Published six monthly* • Yayın Türü: Yerel Süreli Yayın

www.veteriner.org.tr/tr/dergi

ISSN: 0377-6395

Veteriner Hekimler Derneği Adına Sahibi

Prof. Dr. Şakir Doğan TUNCER

Ziya Gökalp Caddesi No:16/7 Kızılay, Ankara

Yazı İşleri Müdürü

Aytaç ÜNSAL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji A.D.

Editörler Kurulu / Editorial Board

Baş Editör / *Editor-in Chief*

Prof. Dr. F. Seda BİLİR ORMANCI

Yardımcı Editörler / *Co-Editors*

Dr. Ali ÇALIK

(Baş Editör Yardımcısı)

Dr. Doğukan ÖZEN

(Editör Yardımcısı / İstatistik Editörü)

Dr. M. Borga TIRPAN

(Editör Yardımcısı/ Yabancı Dil Editörü)

Dr. Ahmet CEYLAN

(Editör Yardımcısı / Elektronik Dergi Editörü)

Aytaç ÜNSAL

(Editör Yardımcısı)

Danışma Kurulu (Advisory Board)*

Prof. Dr. Mustafa ARICAN, Selçuk Üniversitesi

Prof. Dr. R. Tamay BAŞAĞAÇ GÜL, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Hasan BATMAZ, Uludağ Üniversitesi

Prof. Dr. Sacit BİLGİLİ, Auburn University

Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Ayşe ÇAKMAK, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Serdar DİKER, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Murat FINDIK, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Prof. Dr. Ulvi Reha FİDANCI, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet GÜNER, Selçuk Üniversitesi

Prof. Dr. Engin SAKARYA, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN, Kafkas Üniversitesi

* İsimler soyadına göre alfabetik olarak sıralanmıştır.

Hakemli Dergidir

Bu dergi **ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veri Tabanı**, **CABI Yayınlarının CAB Abstracts Veri Tabanı** ve **Türkiye Atıf Dizini (Türkiye Citation Index)** kapsamındadır.

VETERİNER HEKİMLER DERNEĞİ

Adres: Ziya Gökalp Caddesi No:16/7 Kızılay, Ankara • **Tel:** +90 312 431 62 74 • **Faks:** +90 312 435 79 14

e-ileti: info@veteriner.org.tr • **web adresi:** www.veteriner.org.tr

Derneğin Kuruluş Tarihi: 6 Şubat 1930

Derginin İlk Yayın Tarihi: 1 Ekim 1930

Baskı Tarihi:/06/2017

Baskı Adedi: adet basılmıştır.

Tüm hakları saklıdır. Bu Derginin tamamı yada Dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı yada tamamı 5648 sayılı yasanın hükümlerine göre Veteriner Hekimler Derneğinin yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz.

Tasarım - Baskı - Cilt: Kardelen Ofset Matbaacılık Tanıtım Hizmetleri San. Tic. Ltd. Şti.

İncesu Cad. 96'lar Apartmanı 6/Y Kolej - ANKARA

Tel: 0.312 432 1 378 - 432 2 378 • E-mail: kardelenofset@gmail.com • www.kardelenofset.com.tr

Stereological estimation of volume ratios of chest muscle in Atak-s hybrid with Rhode Island Red and Barred Rock pure lines by magnetic resonance imaging

Çağdaş OTO*, Caner BAKICI*, Muhammet TUNCA**, Okan EKİM*,
Doğukan ÖZEN***, Serdar KAMANLI**, Ahmet ÇAKIR*

Abstract: In-vivo determination of the volume ratio of breast muscles among the first local laying hybrid chicken and its parents Rhode Island Red (RIR) and Barred Rock (BAR) by using magnetic resonance (MR) imaging technique with Cavalieri principle and comparing of these data between the three breeds were aimed in this study. Ten pair of 50 weeks old RIR, BAR and ATAK-S hybrid breeds were used as research subjects. After scanning of the whole body with 3.0 Tesla MR scanner, cross-sections were taken from the same levels with the MR images and photographed. The parameters obtained from MR images and physical sections were evaluated with Cavalieri principle by using Stereo Investigator 10.50 software. The ratios of the chest muscle volume to the total body volume on the transversal cross-sectional images for ATAK-S, RIR and BAR are 0.140

± 0.003 , 0.129 ± 0.006 and 0.128 ± 0.002 respectively. As a result, comparative breast volume ratio measurements between three breeds were evaluated (ATAK-S, RIR and BAR) in this study. The volume ratios of the pectoral muscles in ATAK-S hybrid chicken were higher than the parents.

Keywords: ATAK-S, Cavalieri principle, magnetic resonance imaging, pectoral muscle, stereology

Rhode Island Red ve Barred Rock saf hatları ile Atak-s hibritinde göğüs kasları hacim oranlarının manyetik rezonans görüntüleme ile stereolojik açıdan hesaplanması

Öz: Bu çalışmada ülkemizde yetiştirilen ilk yumurtacı yerli hibrit olan ATAK-S ile bu hibritlerin ebeveynleri olan Rhode Island Red (RIR) ve Barred Rock (BAR) hatlarında göğüs kaslarının hacim oranlarının

* Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Ankara / Turkey

** Poultry Research Institute, Ankara / Turkey

*** Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biostatistics, Ankara / Turkey

manyetik rezonans (MR) görüntüleme ile in-vivo olarak belirlenmesi ve ırklar arası karşılaştırma yapılması amaçlandı. Araştırma materyali olarak 10'ar adet, 50 haftalık RIR, BAR ebeveyn hatları ve ATAK-S hibritleri kullanıldı. 3.0 Tesla MR taramayla elde edilen görüntüler ile fiziksel kesitler Stereo Investigator 10.50 yazılım programında Cavalieri hacim hesaplama metodu kullanılarak değerlendirildi. Transversal kesit görüntüleri üzerinden yapılan ölçümlerde göğüs kas hacminin toplam vücut hacmine oranı ortalama olarak ATAK-S için; $0,140 \pm 0,003$, RIR için; $0,129 \pm 0,006$, BAR için; $0,128 \pm 0,002$ olarak belirlendi. Sonuç olarak ATAK-S, RIR ve BAR ırkları arasında yapılan bu karşılaştırmalı hacim oranı ölçüm çalışmasında, üç ırkın göğüs hacim oranları değerlendirildi. ATAK-S hibritinde göğüs kası hacim oranlarının ebeveyn hatlara göre daha yüksek olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: ATAK-S, Cavalieri prensibi, göğüs kasları, manyetik rezonans görüntüleme, stereoloji

Introduction

In late 1960's, studies on the development of domestic parenthood and hybrids with planned breeding have been initiated in laying hen in Turkey. Studies focused on the development of domestic layer parents accelerated in 1995 under the guidance of Ankara Poultry Research Institute (ATAE). However, a specific study comparing the

performance characteristics of outsourced hybrid genotypes with those of ATAE had not been designed. Therefore, breeds on pure lines had been brought in from Canada in 1995 and three domestic commercial layer hybrids were registered as ATAK-S, ATAK and ATABEY (10, 18). Testik and Yiğitoğlu (21) stated that it would be useful to carry out a comprehensive study by the Ministry of Agriculture, ATAE, universities and the private sector in order to determine the performance of the ATAK-S layer genotype under various conditions.

Cavalieri principle is a technique which is developed to estimate the volume of any structure with an unbiased way (7). It was firstly introduced by the Italian mathematician Bonaventura Cavalieri in the 17th century. The basis of this method had been laid by the famous astronomer Johannes Kepler. The ratio of volume component to total volume in organ is also frequently used parameter (3, 14). In the Cavalieri principle, entire organ is cut into equal and parallel sections for volume estimation (7). Surface areas of the each section facing the same direction can be calculated by this method (2).

The starting point of the first image in computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) is chosen completely randomly. In addition, the intervals can be known in advance while images are taken. These are useful features for the convenient application of the Cavalieri principle. It

was seen that 8-15 images were enough for coefficient of error for the volume calculations on CT and MR images (1, 4). The most commonly used projection area calculation method is the point grid field in stereology. This chart is a systematic matrix consisting of points separated by equal intervals from each other. Surface areas of both macroscopic and microscopic structures can be calculated with it (3).

Magnetic resonance imaging is a non-invasive in vivo diagnostic technique. It is the most widely used imaging method for determination of normal and pathological structures of soft tissues with high tissue contrast feature (9, 17). Studies on the examination of muscles, especially the chest muscles, have not only scientific function, but also commercial importance in terms of various parameters for poultry farming. It has also been determined that MRI calculation of muscle mass in poultry is a very effective way to evaluate carcass yield (8).

The aim of this study is to calculate the breast muscle volume fraction values using the Cavalieri principle on the cross-sectional images after performing whole body MRI scans of the native hybrid layer hen ATA-K-S and the parental lines RIR and BAR.

Materials and Methods

For the study, ten for each ATA-K-S, RIR and BAR chicken groups obtained from Ankara Poultry Research Institute were examined.

50 weeks old chickens were weighed with bench scale (Kern FKB, Germany). Before MRI protocol, in order to remove artifacts due to motion during imaging, sodium pentotal injection (i.v.) was administered for euthanasia to the animals from the wing vein (*v. ulnaris*). Images were obtained by 3 Tesla MR (Siemens Timtrio Magnetom, Germany) using standard body coil. Animals were placed in the prone position and scanned on T1-weighted, T2-weighted with three planes. Technical sequence parameters were standardized as following; TE: 13 ms; TR: 600 ms; slice thickness: 0.67 mm; field of view: 256×256 for T1-weighted and TE: 355 ms; TR: 3000 ms; slice thickness: 0.69 mm; field of view: 266×266 for T2-weighted protocol.

After MRI process, a detailed anatomic dissection has been performed to two subjects from each group. Volume and weight of chest muscles were measured after they were removed from the body and then photographs were taken. The whole body of the rest eight of each group were frozen to -18°C for 2 days for physical sectioning. Afterwards they were embedded into water for 2 days in order to provide a proper slicing. Bodies were sliced at 1 cm thick with band saw (Scheppach Basato 4, Germany) from same levels with the matching MR image sections. The obtained sections were recorded by taking images from

the same image quality and height over the fixed photo setup supported by the Canon Power shot S70 camera.

Stereo Investigator software (10.50 32.bit, Macro Bright Field, Inc.) at the Ankara University Faculty of Veterinary Medicine was used for the digital stereological calculations. In accordance with the Cavalieri principle, volume calculations were made on MR and physical section images either. For this purpose, different lenses were calibrated separately for each image. The muscle mass values of the chest, arm, thigh and neck region and all remaining body were calculated. Total volume was determined by the sum of the calculated data. The volume calculation using the Cavalieri principle was carried out by the following formula.

$$V = A_p \times m \times t \times \sum P$$

In the equation; “V” is the measured volume, “m” is the section evaluation range, “A_p” is the area of the point number, “t” is the section thickness, and “∑P” is total number of points (12, 13). Area of each points (A_p) were calculated as 25 mm². The point counting grid was randomly placed on the sections during the calculation. The volume fraction values that calculated on the obtained volume data, were determined according to the formula given below (14).

$$V_{(x,y)} = \frac{\text{Volume X sectin in volume Y}}{\text{Volume Y}}$$

In order to see the reliability of the method, the coefficient of errors (CE) were calculated. During the CE calculation, the formula set by Gundersen and Jensen (13) was automatically calculated.

Descriptive statistics were calculated and presented as “Mean ± Standard Deviation (SD)”. Before performing the statistical analysis, data was examined with Shapiro-Wilk test for normality as parametric test assumptions. Data was analyzed using the GLM for Repeated Measures procedure of SPSS 14.01 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The model included the breeds (ATAK-S, BAR, RIR) as between subject factor and the treatment (MRI and Physical cross section) as within subject factor, and the 2-way interaction term. Post hoc testing was carried out for the significant interaction term using simple effect analysis. A probability value of less than 0.05 was considered significant, unless otherwise noted.

Results

In the study, chest muscles of ATAK-S, RIR and BAR groups were examined and morphometric analyses of the volume fraction values of these muscles were estimated.

It was seen that breast muscles of all three breeds were well developed and formed the largest muscle mass in the body when compared with the other parts of muscles in terms of weight and volume. It was determined that chest muscles were consisted of pectoral

muscle (*m. pectoralis*) and superficial pectoral muscle (*m. pectoralis superficialis*). Both muscles were located in the coracoclavicular membrane and originated with two branches from the sternal costae. While one of the branches lied on the ventrolateral side of the sternum and the other one was on the lateral side of the humerus (Figure 1). The average weights of breast muscle for ATAK-S, RIR and BAR were calculated as 261.6 g, 211.6 g, and 237.2 g respectively. The average volumes

of breast muscle for ATAK-S, RIR and BAR were estimated as 251 ml and 232 ml and 248 ml respectively after dissection.

Muscle tissues were hypointense and fats were slightly hyperintense on T1-weighted images. Bone tissues were displayed hypointense in pneumatic bones such as humerus, and isointense in bones with bone marrow such as femur and sternum. It was observed that soft tissues gave better anatomical details on T1-weighted images.

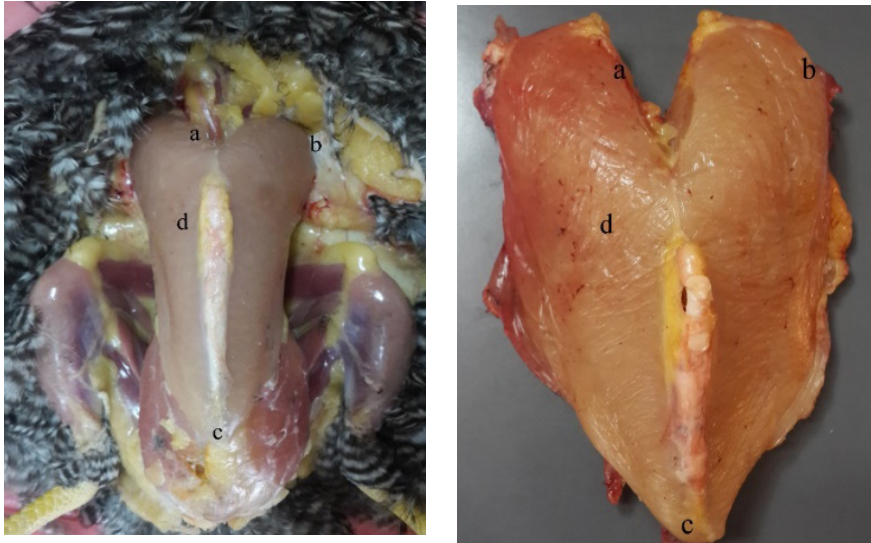


Figure 1: Example of a chest muscle obtained after dissection. a, coracoclavicular border; b, initial limit of humerus; c, end point of sternum; d, musculus pectoralis superficialis.

Şekil 1: Diseksiyon sonucu elde edilen göğüs kası örneği. a, coracoclavicular sınır; b, humerus'un başlangıç sınırı; c, sternum'un bitiş noktası; d, musculus pectoralis superficialis.

Similarly, it was determined that transversal sections provide better anatomical detail for the boundaries of muscle masses compared to sagittal and dorsal sections. Volume and volume fraction ratio values were calculated over the sections according to the Cavalieri principle (Figure 2). Muscle, bone and fat

tissues were easily distinguished from each other without any coloration in the photographs and estimations were made according to the Cavalieri principle (Figure 3).

The average values of chest muscle volume fraction obtained from the transverse sections of MR images of ATAK-S, RIR and

BAR were determined as 0.140 ± 0.003 , and RIR were statistically significant ($p < 0.001$). Similarly, the volume fraction values between ATA-S and BAR were statistically

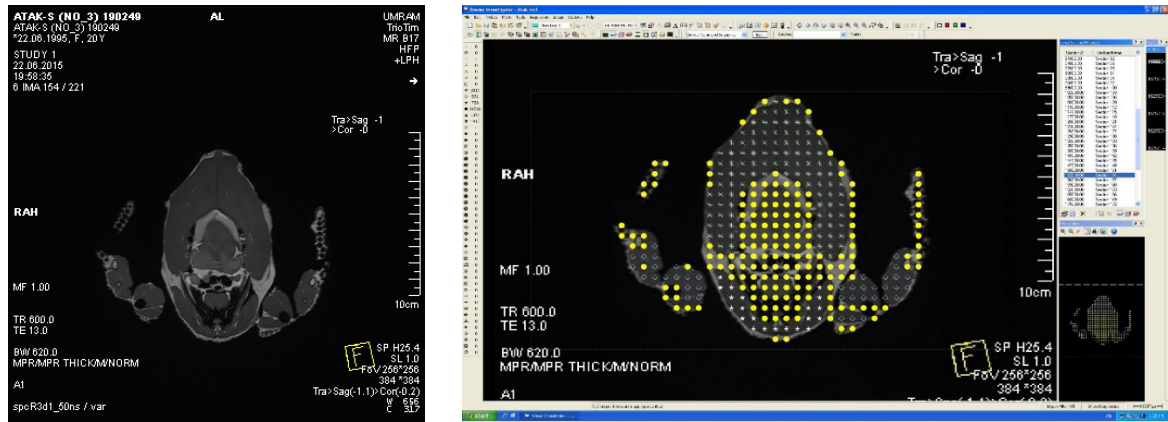


Figure 2: Volume calculation with Cavalieri principle applied on MRI.

Şekil 2: MRG üzerinde uygulanan Cavalieri prensibi ile hacim hesaplaması.

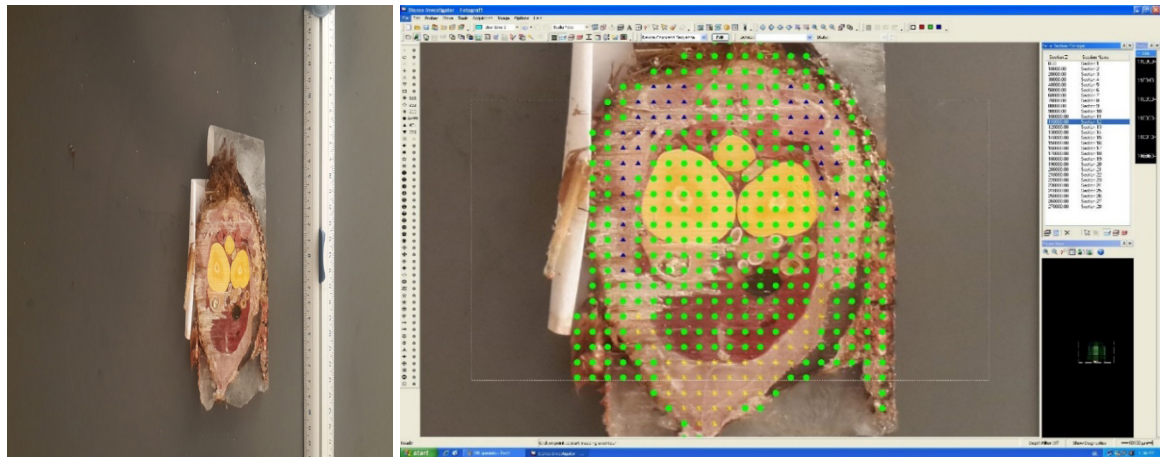


Figure 3: Calculation of the volume with the Cavalieri principle applied on frozen section.

Şekil 3: Gerçek kesit görüntüsü üzerinde uygulanan Cavalieri prensibi ile hacim hesaplaması.

significant ($p < 0.001$), but the values between BAR and RIR were not statistically significant ($p > 0.05$) (Table 1).

The average values of chest muscle volume fraction obtained from the transverse sections of physical images for ATA-S, RIR and BAR were 0.108 ± 0.004 , 0.081 ± 0.001

and 0.084 ± 0.002 , respectively (Table 1). The volume fraction values between the ATA-S and RIR, ATA-S and BAR, BAR and RIR was statistically significant ($p < 0.001$) (Table 2).

Table 1: Descriptive statistics of ratios of chest muscle volume to total body volume in MRI and physical cross sections.

Tablo 1: MRG ve fiziksel kesitlerdeki göğüs kas hacminin toplam vücut hacmine oranlarının tanımlayıcı istatistikleri.

Breed	N	Treatment	
		MRI	Physical
ATAK	10	Mean \pm SD	Mean \pm SD
BAR	10	0.14 \pm 0.003	0.108 \pm 0.004
RIR	10	0.128 \pm 0.002	0.084 \pm 0.002
		0.129 \pm 0.006	0.081 \pm 0.001

When the MR and cadaver cross-section images were compared (Figure 4), the volume fraction values of the chest muscles for three breeds were statistically significant ($p < 0.001$ Table 2).

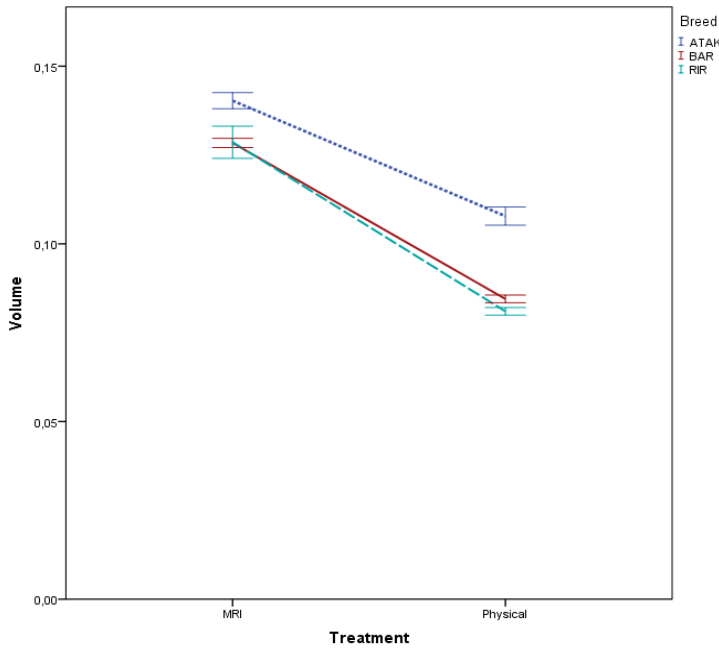


Figure 4: MRI and physical cross section volume estimations of breeds.

Şekil 4: Irklara göre MRG ve fiziksel kesit hacim verileri.

Table 2: Effects of treatment and breeds.**Tablo 2:** Yaklaşımların ve ırkların etkileri.

Source of Variation	df	Mean square	F	P
Treatment	1	0.026	2116.61	<0.001
Breed	2	0.001	198.24	<0.001
Treatment * Breed	2	0.003	25.58	<0.001
Pairwise Comparisons				
Treatment	Breed			
MRI	ATAK vs. BAR			<0.001
MRI	ATAK vs. RIR			<0.001
MRI	BAR vs. RIR			0.916
Physical	ATAK vs. BAR			<0.001
Physical	ATAK vs. RIR			<0.001
Physical	BAR vs. RIR			0.003
Breed	Treatment			
ATAK	MRI vs. Physical			<0.001
BAR	MRI vs. Physical			<0.001
RIR	MRI vs. Physical			<0.001
Error Term (Treatment)	27	1,21E-05		
Error Term (Breed)	27	5.73E-06		

Discussion and Conclusion

The Archimedes method, the oldest and most common method for volume measurements, is based on the principle of

immersing objects into water. However, this method could be misleading for the structures with complex internal anatomy. For this reason, different methods have been developed. One

of them is the Cavalieri principle which is an unbiased stereological method. It is possible to estimate volume or volume fraction values with area calculations on twodimensional cross section images with specified thickness by this method (16).

Body fat ratios, chest muscle volumes and body compositions were evaluated by computerized tomography in broiler chicken (5) and turkey (6). In previous studies, Eric et al. (11) used the Cavalieri principle on tomography images for measuring chest volume in human. Scollan et al. (19) suggested that reconstructed images from MRI can be used as an effective method for determining body composition in studies of chest muscle mass estimation in chickens. Similarly, Mitchell et al. (15) evaluated MRI images and 3D reconstructed data's for analysing of body composition in pigs. Similar to Scollan et al. (19) and Mitchell et al. (15), high resolution cross sectional images obtained in our study was revealed that MRI is an effective imaging technique for the discrimination of both muscle and fat tissues. It was seen that much more detailed sections can be obtained in MRI than CT. Parallel to mentioned researches above, it was seen that the Cavalieri principle gives proper, accurate and unbiased results for volume measurement on section images.

Scollan et al. (19) and Mitchell et al. (15) were emphasized the importance of in vivo MR data acquisition in validating and evaluating the results. When frozen cadaver sections were evaluated, some disadvantages such as the difficulty of obtaining proper cadaver sections, necessity of animal sacrifice and alterations in the tissue shrinkage rates according to the cadaver's storage method can affect volumetric data.

Silvia et al. (20) calculated chest volume ratios on real time ultrasound images on chickens and made estimates for carcass morphometry. They have emphasized that ultrasound is quicker and practical than MR and CT with high contrast in addition to being in-vivo. However, they have suggested that more effective image analysis systems than ultrasound could be developed. Walton et al. (22) compared ultrasonography with MRI on quadriceps muscle images and stated that MRI could be a good alternative method for visualization and determination of muscles. Researchers also integrated the Cavalieri method to MRI and indicated that this modification could be unbiased. It is thought that MRI can be rather used as a convenient alternative to both tomography and ultrasonography either and it is one of the most effective methods for imaging muscle and

similar soft tissues when compared to other imaging modalities. Our study also indicated that Cavalieri principle is the most convenient method to estimate volume calculations from MR images.

In conclusion, the comparative volume calculation of breast muscles between ATA-K-S, RIR and BAR indicated that ATA-K-S have a higher volume fraction value than the parent breeds in this study. From this point, it can be said that the ATA-K-S hybrid reveals heterozygosis in terms of chest muscle ratios. It is predicted that this specific property can be quite useful if integrated to slow-growing broiler chicken studies. Our study also indicated that MRI is an effective and preferred imaging method in studies to be performed on carcass morphometry with advantages such as being non-invasive and providing in-vivo and high resolution images. It is thought that MRI combined with stereological methods can be used as a reliable method in further studies of body composition determination especially planned for broiler species.

Acknowledgements

This study was supported by Food, Agriculture and Livestock Ministry, General Directorate of Agricultural Research and Policies Republic of Turkey.

References

1. **Acer N, Basaloglu H, Bayar B, Bayar K, Öner E, Sankur S** (2008): *Unbiased estimation of the calcaneus volume using the cavalieri principle on computed tomography images*. Ann Anat, **190**, 452-460.
2. **Alcorn D, Bertram JF, Cahill MM, Kett MM, Mccausland JE** (1996): *Glomerular stereology: Why, what and how to measure glomerular structure*. Nephrology, **2**, 305-313.
3. **Aslan H, Bilgiç S, Canan S, Kaplan S, Odacı E, Şahin B, Ünal B** (2002): *Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri Prensibi*. T Klin J Med Sci, **22**, 7-14.
4. **Bahadır A, Baş O, Bilgiç S, Canan S, Kaplan S, Odacı E, Şahin B, Yıldırım Ş** (2005): *Cavalieri prensibi kullanılarak bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleri üzerinden hacim hesaplanması ve klinik kullanımı*. T Klin J Med Sci, **25**, 421-428.
5. **Baka GA, Romvari R, Milisits G, Suto Z, Szabo A, Locsmandi L, Horn P** (2003a): *Non-invasive body composition measurement of broiler chickens between 4 – 18 weeks of*

- age by computer tomography. Arch. Tierz Dummerstorf, **6**, 585-595.
- 6. Baka GA, Romvari R, Milisits G, Suto Z, Szabo A, Horn P (2003b): Comparative study of the body composition of different turkey genotypes by means of CT. Arch. Tierz Dummerstorf, **3**, 285-292.**
- 7. Bertram JF, Nurcombe V, Wreford NG (2001): Neurotrophin Protocols. Methods in Molecular Biology. Humana Press Inc. Totowa, NJ.**
- 8. Collewet G, Davanel A, Remignon H, Seigneurin F (2000): Estimation of poultry breastmeat yield: magnetic imaging as a tool to improve the positioning of ultrasonic scanners. Meat Science, **56**, 153-158.**
- 9. Ekim O, Oto Ç, Algin O, Bakıcı C (2013): High resolution 3D magnetic resonance imaging of the visceral organs in chicken (*Gallus domesticus*) by 3 Tesla MR unit and 15-channel transmit coil. Vet J Ankara Univ, **60**(4): 229-233.**
- 10. Elibol O, Fathel AN (2006): Yerli ve dış kaynaklı kahverengi yumurtacı hibritlerin verim özellikleri bakımından karşılaştırılması. Tarım Bilimleri Dergisi, **12**(2): 182-187.**
- 11. Eric M, Anderia A, Stefanovic D, Drapsin M (2014): Breast volume estimation from systematic series of CT scans using the Cavalieri principle and 3D reconstruction. Int J Surg, **12**, 912-917.**
- 12. Garcia-finana M, Cruz-orive LM, Mackay CE, Pakkenberg B, Roberts N (2003): Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments. Neuroimage, **18**(2): 505-516.**
- 13. Gundersen HJG, Jensen EB (1987): The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. J Microsc, **147**, 229-263.**
- 14. Howard CV, Reed M (2005): Unbiased Stereology. Garland Science, Cornwall, UK.**
- 15. Mitchell AD, Scholz AM, Wang PC, Song H (2001): Body composition analysis of the pig by magnetic resonance imaging. J Anim Sci, **79**, 1800-1813.**
- 16. Odacı E, Şahin B, Sönmez OF, Kaplan S, Bas O, Bilgiç S, Bek Y, Ergür H (2003): Rapid estimation of the vertebral body volume: a combination of the cavalieri principle and computed tomography images. Eur J Radiol, **48**, 316-326.**
- 17. Oto Ç, Ekim O, Algin O, Şenel OO, İnce N, Hazıroğlu RM (2011): 3 Tesla Magnetic resonance imaging and multiplanar reconstruction of the brain and its associated**

structures in pig. Vet J Ankara Univ, **58**, 75-78.

18. Sarıca M, Camcı Ö, Mızrak C, Akbay R, Türkoğlu M, Yamak US (2012): Türkiye'de Kanatlı Islah Stratejilerine Bakış. Ulusal Kümes Hayvanları Kongresi. 3-5 Ekim 2012 Bornova, İzmir. Bildiri Kitabı: 27-48.

19. Scollan ND, Caston LJ, Liu Z, Zubair AK, Leeson S, McBride BW (1998): Nuclear magnetic resonance imaging as a tool to estimate the mass of the pectoralis muscle of chickens in vivo. Brit Poult Sci, **39**, 221-224.

20. Silvia S, Pinheiro V, Guedes C, Mourao J (2007): Prediction of carcass and breast weights and yields in broiler chickens using breast volume determined in vivo by real-time ultrasonic measurement. Brit Poult Sci, **47(6)**: 694-699.

21. Testik A, Yiğitoğlu E (2008): ATAK-S yumurtacı tavuk hibritinin çukurova (Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği) koşullarında performansının saptanması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, **18(2)**: 113-121.

22. Walton JM, Roberts N, Whitehouse GH (1997): Measurement of the quadriceps femoris muscle using magnetic resonance and ultrasound imaging. BR J Sports Med, **31**, 59-64.

Geliş Tarihi: 3/03/2017 Kabul Tarihi: 17/3/2017

Address for correspondence:

Caner BAKICI, DVM, PhD

Ankara University,

Faculty of Veterinary Medicine,

Department of Anatomy

06110, Dışkapı, Ankara

e-mail: vetcanerbakici@gmail.com

phone: +90 312 317 03 15 / 4265

İsviçre esmeri ineklerde kistik ve dominant folikül sıvılarının metabolik ve iyon kompozisyonlarının karşılaştırılması

Murat Onur YAZLIK*, Hatice Esra ÇOLAKOĞLU**, Ufuk KAYA***

Öz: Sunulan çalışmada, İsviçre Esmeri ineklerin kistik ve dominant folikül sıvılarında çeşitli metabolit, enzim ve iyon düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı. Postpartum dönem sürecinde düzenli klinik ve ultrasonografik muayeneleri yapılan İsviçre Esmeri ineklerden, 10 gün ara ile yapılan iki muayenede ovaryumlarında 25 mm ve üzerinde folikül çapı (kist) belirlenen hayvanlar kist grubuna (n=7) dahil edildi. Kesimhaneye gönderilen ve ovaryumlarında çapı 15-20 mm arasında fizyolojik dominant foliküler yapıya sahip inekler ise dominant folikül grubunu oluşturdu (n=4). Kistik ve dominant folikül sıvıları her iki grupta da aspire edilerek biyokimyasal metabolitlerin (Glikoz, Total Protein, Albümin, Kolesterol, Trigliserid, Üre, Toplam ve Direk Bilirubin ve Kreatinin kinaz), enzimlerin (Aspartat aminotransferaz, Alanin aminotransferaz, Laktat dehidrogenaz, Gama-Glutamil transferaz, Alkalen fosfataz) ve iyonların (Kalsiyum ve Fosfor) düzeyleri belirlenerek karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Kistik ve dominant folikül grupları arasında aspire edilen sıvıların metabolit, enzim ve iyon konsantrasyonları yönünden istatistiksel bir farklılık tespit edilemedi ($P>0.05$). Sonuç olarak; foliküler sıvı enzim, iyon ve metabolit konsantrasyonlarının dominant ve kistik foliküllerde farklı olmadığı belirlenmekle birlikte olgu sayısının arttırıldığı ve folikül çapı çeşitliliğinin sağlandığı daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Folikül, inek, kist, profil

* Arş. Gör., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara

** Arş. Gör. Dr, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara

*** Arş. Gör., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara

Comparison of metabolic and ion concentrations of cystic and dominant follicular fluids in Brown Swiss cows

Abstract: The aim of this study was to compare various metabolite, enzyme and ion levels of cystic and dominant follicular fluids in Brown Swiss dairy cows. Regular clinic and ultrasonographic examinations were applied to the animals two times in ten days interval. Animals which consist 25 mm and higher follicle diameter in their ovary were selected to cyst group (n=7). The cows, which were sent to the slaughterhouse and had between 15 and 20 mm diameter physiological follicular structures on their ovaries, were included into dominant follicle group (n=4). The level of biochemical metabolites (Glucose, Total Protein, Albumin, Cholesterol, Triglyceride, Urea, Total and Direct Bilirubin and Creatinine kinase), enzymes (Aspartate aminotransferase, Alanine aminotransferase, Lactate dehydrogenase, Gama-Glutamyl transferase, Alkaline phosphatase) and ions (Calcium and Phosphorus) were determined and evaluated comparatively by aspirating follicular fluids in both cystic and dominant follicle groups. There was no statistically significant difference between metabolite,

enzyme and ion concentrations of follicular fluids in cystic and dominant follicle groups ($P>0,05$). In conclusion, concentrations of follicular fluid metabolites, enzymes and ions do not differ between cystic and dominant follicles. It is suggested that more detailed studies with different follicle diameters and with more samples should be conducted to determine the differences.

Keywords: Cow, cyst, follicle, profile

Giriş

Ovaryum kistleri infertiliteye neden olan ve reproduksiyonu olumsuz etkileyen sorunların başında gelmektedir (5). Ovaryum kistleri 2 cm çapından büyük olan anovulatör yapılar olup korpus luteum yokluğunda varlıklarını devam ettiren patolojik yapılardır (4). Normal foliküler gelişimde çeşitli intraovaryan otokrin ve parakrin faktörler ile gonadotropinlere ihtiyaç vardır (14). Bu faktörlerin düzenlenmesinde ise foliküler sıvı görev almaktadır. Foliküler sıvı aynı zamanda oositin çekirdeği ve sitoplazmasının gelişiminde fizyolojik, biyokimyasal ve metabolik açıdan da öneme sahiptir. Foliküler sıvı, kan serum bileşenleri ile foliküler hücrelerin metabolik aktiviteleri sonucu lokal olarak üretilen

bileşiklerinden oluşmaktadır (8). Metabolik aktivite ve kan folikül bariyerinin özellikleri folikülün büyüme fazında farklılık gösterir. Bu nedenle farklı boyuttaki foliküllerde farklı biyokimyasal kompozisyonlar ile karşılaşılabilir (16). Foliküler gelişim ve oosit maturasyonunda birçok hormon, mineral, enzim ve metabolit görev almaktadır (2). Foliküler sıvıdaki değişimlerin oosit kalitesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla öncelikle foliküler yapılar da metabolit, iyon ve enzimlerin fizyolojik ve patolojik konsantrasyonlarının belirlenmesi gerekmektedir (1, 15, 19, 21).

Bilgilerimize göre ineklerde ovaryum kistlerinin veya farklı büyüklükteki foliküler sıvıların metabolit, enzim ve iyon düzeylerini değerlendiren çalışmalar bulunmakla birlikte ineklerde kistler ile dominant foliküllerin foliküler sıvı kompozisyonunu kıyaslayan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (9, 10, 12, 17, 18). Bu çalışmada İsviçre esmeri ineklerde kistik ve dominant folikül sıvılarında glikoz, total protein, albümin, kolesterol, trigliserid, üre, toplam ve direk bilirubin (BIT, BID) ve kreatinin kinaz (CK) metabolitlerinin yanı sıra, Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), Laktat dehidrogenaz

(LDH), Gama-Glutamil transferaz (GGT), Alkalen fosfataz (ALP) enzimleri ile kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) iyon düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Kistik ve foliküler sıvıların toplanması: Çalışmanın hayvan materyalini çiftlik şartlarında yetiştirilen ve postpartum dönem içerisinde muayeneleri yapılan 2-5 yaş aralığındaki İsviçre Esmeri inekler (kist grubu) ile çeşitli nedenlerle mezbahaya sevk edilen ve ovaryumlarında dominant folikül saptanan (kontrol grubu) aynı ırktan inekler oluşturdu. Postpartum 25. günden itibaren düzenli klinik ve ultrasonografik muayeneleri (7,5 MHz Linear prob, Hasvet 838®, Hasvet) yapılan inekler içerisinde, 10 günlük aralıklarla yapılan iki muayenede ovaryumlarında korpus luteum saptanmayan, 25 mm ve üzerinde folikül çapı kist grubuna (n=7) dahil edildi (4). Kesimhaneye gönderilen ve ovaryumlarında regrese korpus luteum ile çapı 15-20 mm arasında değişen fizyolojik dominant foliküler yapıya sahip inekler ise kontrol grubunu oluşturdu (n=4). Kesimhanede toplanan inek ovaryumları ayrı ayrı paketlenerek buz aküleriyle sağlanan soğuk zincir koşulları altında 1 saat içerisinde laboratuvara

ulaştırıldı. Ovaryum üzerindeki yapıların ölçümleri su banyosunda ultrasonografi cihazı ile gerçekleştirildi.

Kistik ovaryum folikülü tespit edilen hayvanlarda transvaginal aspirasyon ile kist sıvıları steril enjektörlere toplandı (13). Kontrol grubunda ise foliküler sıvı aspirasyonu laboratuvar koşullarında farklı steril enjektörler ve kanüller kullanılarak gerçekleştirildi. Toplanan folikül ve kist sıvıları 3000 devirde 15 dk santrifüj edildi. Hücre artıkları çöktürüldü ve elde edilen süpernatant toplanarak analiz gününe kadar -20° C’de saklandı.

Biyokimyasal analizler: Kistik ve dominant foliküllerden toplanan foliküler sıvılarda biyokimyasal metabolitler (Glikoz, Total Protein, Albümin, Kolesterol, Trigliserid, Üre, Toplam ve Direk Bilirubin ve Kreatinin kinaz), enzimler (Aspartat aminotransferaz, Alanin aminotransferaz, Laktat dehidrogenaz, Gama glutamil transferaz, Alkalen fosfataz) ve iyonlar (Kalsiyum ve Fosfor)’ın ölçümü Erba Mannheim test kitleri (Tablo 1) kullanılarak çoktanrastgele seçimli bir multianalizör sistemi olan, bilgisayar ile yazıcıya sahip biyokimya otoanalizörü (ERBA® XL 600- Almanya) ile kullanıcı talimatları doğrultusunda ölçüldü.

İstatistiksel analiz: Elde edilen tüm değişkenler önemlilik testlerine geçilmeden önce parametrik test varsayımlarından normallik yönünden Shapiro-Wilk, varyansların homojenliği yönünden ise Levene testi ile incelendi. Varsayımlar sağlanamadığından değişkenler arası farklılığın istatistiksel açıdan kontrolü Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri “Medyan (Minimum – Maksimum Değer)” şeklinde gösterildi. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelendi. SPSS 14.01 paket programından yararlanıldı.

Tablo 1: Ticari kitlerin analitik methodu ve referans numaraları**Table 1:** Analytical methods and reference numbers of commercial kits

Ticari Kitler*	Analitik metod	Referans Numarası
Glikoz	Hekzokinase, Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH)	XSYS012
Total protein	Biurent reaksiyonu	XSYS0018
Albumin	Albumin bromkresol yeşil (BCG) metodu	XSYS0001
Kolesterol	Enzimatik:kolesterol oksidaz (CHOD)-PAP	XSYS0009
Trigliserid	Enzimatik: Gliserol-3-fosfat oksidaz (GPO)-PAP	XSYS0041
Üre	UV kinetik	XSYS0020
Toplam bilirubin	N,N-dietil-p-fenilendiamin	XSYS0023
Direkt bilirubin	Jendressik	XSYS0028
Kreatinin kinaz	Uluslararası klinik biyokimya ve laboratuvar tıbbi federasyonu metodu (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) (IFCC) 37°C	XSYS0028
Aspartat aminotransferaz	IFCC 37°C (piridoksal-5-fostat (P5 P) kullanılmadan)	XSYS0016
Alanin aminotransferaz	IFCC 37°C (P5 P kullanılmadan)	XSYS0017
Laktat dehidrojenaz	Optimize edilmiş (Alman Klinik kimya Topluluğu) Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie (DGKC) metodu	XSYS0013
Gama glutamil transferaz	Standardize edilmiş sıvı Szasz	XSYS0011
Alkalen fosfataz	IFCC 37°C	XSYS0002
Kalsiyum	Kolorimetrik: o-kresolfitalein komplekson	XSYS0007
Fosfor	Fosfomolibdat	XSYS0015

*: Erba Lachema s.r.o. Karasek 1d, 621 00 Brno, CZ.

Bulgular

Kistik ve dominant foliküler sıvılarının metabolit (Tablo 2), enzim (Tablo 3) ve iyon (Tablo 4) konsantrasyonlarının istatistiksel analizleri sonucunda elde edilen

bulgular tablolarda gösterilmiştir. Kistik ve dominant folikül sıvıları arasında metabolit konsantrasyonları, enzim değerleri, Ca ve P konsantrasyonları bakımından istatistiksel olarak bir fark belirlenmedi ($P>0,05$).

Tablo 2: Kistik ve dominant folikül sıvılarında bazı metabolitlerin konsantrasyonları

Table 2: Concentrations of some metabolites in cystic and follicular fluid

Metabolit	Grup	n	Medyan (Min. – Maks.)	P
Glikoz (mg/dl)	Kistik Folikül	7	24.60 (15.10 - 45)	0,131
	Dominant Folikül	4	19.30 (11.40 – 21.50)	
Total protein (g/dl)	Kistik Folikül	7	6.02 (5.38 – 8.69)	0,450
	Dominant Folikül	4	6.47 (5.68 – 6.84)	
Albumin (g/dl)	Kistik Folikül	7	3.50 (3.20 – 4.70)	0,922
	Dominant Folikül	4	3.55 (3.20 – 3.60)	
Kolesterol (mg/dl)	Kistik Folikül	7	66.00 (7 - 156)	0,257
	Dominant Folikül	4	51.50 (41.40 – 62.80)	
Trigliserid (mg/dl)	Kistik Folikül	7	4.60 (3.10 – 18.40)	0,257
	Dominant Folikül	4	3.90 (3.20 – 4.40)	
Üre (mg/dl)	Kistik Folikül	7	29.70 (21.10 – 43.60)	0,345
	Dominant Folikül	4	27.05 (22.10 – 31.10)	
Toplam bilirubin (mg/dl)	Kistik Folikül	7	0.12 (0 – 0.14)	0,775
	Dominant Folikül	4	0.12 (0.02 – 0.14)	
Direkt bilirubin (mg/dl)	Kistik Folikül	7	0.07 (0.01 – 0.12)	0,252
	Dominant Folikül	4	0.105 (0.07 – 0.12)	
Kreatinin kinaz (U/l)	Kistik Folikül	7	32.10 (16.20 – 38.60)	0,344
	Dominant Folikül	4	29.45 (14.30 – 30.60)	

Tablo 3: Kistik ve dominant folikül sıvılarında bazı enzimlerin konsantrasyonları**Table 3:** Concentration of some enzymes in cystic and follicular fluid

Enzim	Grup	n	Medyan (Min. – Maks.)	P
Aspartat aminotransferaz (IU/l)	Kistik Folikül	7	86.40 (23.20-116.90)	0,996
	Dominant Folikül	4	83.20 (71.10-100.2)	
Alanin aminotransferaz (IU/l)	Kistik Folikül	7	18.90 (9.70-31.30)	0,850
	Dominant Folikül	4	18.65 (17.40-21.80)	
Laktat dehidrogenaz (IU/l)	Kistik Folikül	7	1440.00 (1181-1475)	0,218
	Dominant Folikül	4	1327.50(1180-1440)	
Gama glutamil transferaz (IU/l)	Kistik Folikül	7	17.00 (5.30- 25.10)	0,345
	Dominant Folikül	4	15.70 (15-16.80)	
Alkalen fosfataz (IU/l)	Kistik Folikül	7	4.00 (1-12)	0,998
	Dominant Folikül	4	4.50 (3-6)	

Tablo 4: Kistik ve dominant folikül sıvılarında kalsiyum ve fosfor konsantrasyonları**Table 4:** Calcium and phosphorus concentration in cystic and follicular fluid

İyon	Grup	n	Medyan (Min. – Maks.)	P
Kalsiyum (mg/dl)	Kistik Folikül	7	9.20 (8.70-12.70)	0,569
	Dominant Folikül	4	10.14 (8.40-11.80)	
Fosfor (mg/dl)	Kistik Folikül	7	6.79 (6.41-12.80)	0,089
	Dominant Folikül	4	4.17 (2.89-7.85)	

Tartışma ve Sonuç

Hayvanlarda fizyolojik ve patolojik durumun belirlenmesinde kandaki çeşitli metabolit, enzim ve iyon ölçümlerinin önemli rolü bulunmaktadır. Foliküler sıvıların biyokimyasal ve hormonal kompozisyonlarının belirlenmesi ile foliküllerin fonksiyonel durumlarının ortaya konulabileceği belirtilmektedir (7).

Yüksek enerji sağlamak amacıyla rasyon kaynaklı alınan kolay parçalanabilen proteinler

kan üre konsantrasyonunu artırarak fertilitiyi olumsuz yönde etkilemektedir (6). Üre ve üre metabolizmasının ürünleri sadece kan serumunda etkili olmamakta ayrıca foliküler sıvılarda da bu metabolitlere rastlanmaktadır (20). Koyun (16), inek (9, 21) ve mandalarda (10), yapılan çalışmalarda folikül çapı ile foliküler sıvı üre konsantrasyonu arasında ilişki olmadığı saptanmıştır. Sunulan çalışmada da önceki çalışmalara benzer olarak yapılan çalışmada üre konsantrasyonu her

iki grup arasında farklılık göstermemektedir. Folikül sıvısı üre konsantrasyonunun sadece folikül çapı ile değil, patolojik kist oluşumu ile de ilişkisinin olmadığı düşünülmektedir.

İneklerde foliküler sıvı glikoz konsantrasyonunun, kan glikoz konsantrasyonundan oldukça düşük olduğu ve bu farklılığın granuloza hücrelerinin foliküler sıvıdaki glikoz konsantrasyonunu kullanarak enerji sağlamasından kaynaklandığı bildirilmiştir (9). Kist aşamasına ulaşan bir folikül ile dominant folikül sıvılarının glikoz konsantrasyonları benzer olduğundan kistik foliküllerin enerji ihtiyacının dominant foliküller ile aynı olabileceği düşünülmektedir. Foliküler sıvılarda glikoza ek olarak trigliserid de enerji kaynağı olarak kullanılabilen ve trigliserid konsantrasyonu da lokal metabolik olaylar ile değişim göstermektedir (12). Farklı türlerde yapılan önceki çalışmalarda (9, 10, 16, 21) folikül içi glikoz ve trigliserid konsantrasyonunun folikül çapı ile ilişkili olmadığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalara benzer olarak sunulan çalışmada kist grubunda hem glikoz hem de trigliserid konsantrasyonunun kontrol grubundan farklı olmaması ile kist grubunda da herhangi bir enerji sorunu bulunmadığı ve kist oluşumuna bu iki parametrenin etkisinin olmadığı düşünülmektedir.

Bratmeir ve ark., (3) yaptıkları bir çalışmada folikül boyutu arttıkça foliküler sıvıdaki total protein konsantrasyonunun

düşüğünü bildirilmişlerdir (3). Sunulan çalışmada ise gruplar arasında toplam protein konsantrasyonu benzer bulunmuştur.

Folikül içi sıvıda kolesterol konsantrasyonu ile folikül çapı arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Tabatabaei ve ark. (21), folikülün büyüklüğü arttıkça folikül içi sıvıda kolesterol miktarının düştüğünü bildirirken, Brantmeier ve ark. (3) bu durumun tersinin şekillendiğini bildirilmişlerdir. Dolayısı ile folikül içi kolesterol konsantrasyonunun folikül büyüklüğü ile ilişkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Kolesterol steroidogenezisin temel bileşenidir. Büyük foliküllerde kolesterol konsantrasyonundaki düşüşün nedeni olarak steroidogenik aktivite gösterilmiştir (21). Kistik ovaryum folikülleri de steroidogenik olarak aktif yapılardır (22). Sunulan çalışmada her iki grubun da folikül içi kolesterol konsantrasyonları benzerdir ve folikül boyutunun bu değer üzerine etkisi görülmemektedir. Bu benzerliğin nedeninin kistik boyuta ulaşan foliküllerde dominant foliküllere benzer steroidogenik aktivite olduğu düşünülmektedir.

Foliküler sıvı içerisindeki ALP konsantrasyonu ile foliküllerde şekillenen dejenerasyon hakkında bilgi sahibi olunabileceği ve ALP konsantrasyonunun atretik foliküllerde diğer foliküllere oranla oldukça yüksek gözlemlendiği bildirilmiştir (11). Bu çalışmada kistik ve dominant foliküller

sıvı içerisindeki ALP konsantrasyonları arasında göreceli bir farklılık görülse de istatistiksel anlamda herhangi bir farklılık görülmemektedir.

LDH ve AST karaciğer ve böbreklerin normal fonksiyonlarını yansıtan bileşenlerdir. Ancak foliküler sıvı AST ve LDH konsantrasyonlarının oosit gelişimi ile doğrudan etkili olmadığı bildirilmiştir (9). Sunulan çalışmada da her iki grubun AST ve LDH konsantrasyonları arasında herhangi bir istatistiksel farklılık bulunmaması ise Iwata ve ark., (9)'nın bulgularına paralel olarak kistik veya dominant folikül gelişiminde her iki parametrenin de doğrudan etkisinin olmayabileceğini düşündürmektedir.

Steroidogenezis mekanizmasında kalsiyum da önemli role sahiptir. Kalsiyum, gonadotropin regülasyonunda önemli role sahiptir. Çapı 20 mm'ye kadar olan foliküllerin değerlendirildiği çalışmada artan folikül boyutunun, foliküler sıvı kalsiyum düzeyi ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir (21). Sunulan çalışmada ise folikül içi kalsiyum seviyesinin kistik ve dominant foliküllerde farklılık göstermediği gözlemlenmiştir. Bu nedenle 20 mm boyutunu aşan bu patolojik foliküllerin gelişiminde folikül içi kalsiyum seviyesinin etkili olmadığı saptanmıştır.

Foliküler sıvı fosfor konsantrasyonu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda sonuçlar farklılık göstermektedir. Keçilerde folikül çapı arttıkça fosfor konsantrasyonun

azaldığı (15) koyunlarda ise folikül içi fosfor konsantrasyonunun folikül çapı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (16). Tabatabaei ve ark. (21) ineklerde folikül çapı arttıkça foliküler sıvı fosfor konsantrasyonunun düştüğünü saptamışlardır. Sunulan çalışmada kistik ve foliküler sıvıların fosfor konsantrasyonunda farklılık gözlemlenmemesi ile kalsiyumun yanı sıra fosforun da patolojik foliküllerin gelişiminde etkili olmadığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, 15-20 mm çaptaki dominant foliküller ve 25 mm çaptan büyük kistik foliküllerin değerlendirildiği çalışmada foliküler sıvı metabolit, iyon ve enzim konsantrasyonlarının kistik ve dominant foliküllerde farklılık göstermediği belirlenmiştir. Bunun sebebinin ise çalışma gruplarında kullanılan hayvan sayılarının azlığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle foliküler sıvı metabolit, enzim ve iyon konsantrasyonlarının kistik ve foliküler gelişim aşamalarına etkinliğinin; olgu sayısının artırıldığı, fizyolojik ve patolojik foliküler gelişim aşamalarının ayrı ayrı incelendiği yeni çalışmaların yapılması ile kistik problemlerinin tanımlanmasına ve yönetimine fayda sağlanabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. **Arshad HM, Ahmad N, Rahman ZU, Samad HA, Akhtar N, Ali S** (2005): *Studies on some biochemical constituents of ovarian follicular fluid and peripheral blood in buffaloes*. Pak Vet J, **25**, 189-193.
2. **Arthur GH, Noakes DE, Pearson H, Parkinson TJ** (1996): *Arthur's veterinary reproduction and obstetrics*, 7th ed. WB Saunders, London.
3. **Brantmeier SA, Grummer RR, Ax RL** (1987): *Concentrations of high-density lipoproteins vary among follicular sizes in the bovine*. J Dairy Sci, **70**, 2145–2149.
4. **Braw-Tal R, Pen S, Roth Z** (2009): *Ovarian cysts in high-yielding dairy cows*. Theriogenology, **72**, 690–698.
5. **Das GK, Khan FA** (2010): *Summer anoestrus in buffalo—a review*. Reprod Dom Anim, **45**, 483-494.
6. **Dawuda PM, Scaramuzzi RJ, Leese HJ, Hall CJ, Peters AR, Drew SB, Wathes DC** (2002): *Effect of timing of urea feeding on the yield and quality of embryos in lactating dairy cows*. Theriogenology, **58**, 1443–1455.
7. **Eissa HM** (1996): *Concentrations of steroids and biochemical constituents in follicular fluid of buffalo cows during different stages of the oestrous cycle*. Brit Vet J, **152**, 573–581.
8. **Gerard N, Loiseau S, Duchamp G, Seguin F** (2002): *Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (HNMR)*. Reprod, **124**, 241–248.
9. **Iwata H, Inoue J, Kimura K, Kuge T, Kuwayama T, Monji Y** (2006): *Comparison between the characteristics of follicular fluid and the developmental competence of bovine oocytes*. Anim Reprod Sci, **91**, 215-223.
10. **Khan FA, Das GK, Pande M, Pathak MK, Sarkar M** (2011a): *Biochemical and hormonal composition of follicular cysts in water buffalo (Bubalus bubalis)*. Anim Reprod Sci, **124**, 61-64.
11. **Khan FA, Nabi SU, Pande M, Das GK, Sarkar M** (2011b): *Bilateral follicular cysts in a water buffalo*. Trop Anim Health Prod, **43**, 539-541.
12. **Leroy JLMR, Vanholder T, Delanghe JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PEJ, de Kruif A** (2004): *Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows*. Anim Reprod Sci, **80**, 201-211.
13. **Lievaart JJ, Parlevliet JM, Dieleman SJ, Rientjes S, Bosman E, Vos P L** (2006): *Transvaginal aspiration as first treatment of ovarian follicular cysts in dairy cattle under field circumstances*. Tijdschr Diergeneeskd, **131**, 438-442.

- 14. Mason H, Franks S** (1997): *Local control of ovarian steroidogenesis*. Clin Obstet Gynaecol, **11**, 261–279.
- 15. Mishra OP, Pandey JN, Gawande PG** (2003): Study on biochemical constituents of caprine ovarian follicular fluid after superovulation. Asian Aust Focus, **16**, 1711–1715.
- 16. Nandi S, Kumar VG, Manjunatha BM, Gupta PSP** (2007): *Biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size*. Dev Growth Differ, **49**, 61-66.
- 17. Orsi NM, Gopichandran N, Leese HJ, Picton HM, Harris SE** (2005): *Fluctuations in bovine ovarian follicular fluid composition throughout the oestrous cycle*. Society Reprod Fertil, **129**, 219–228.
- 18. Polat IM, Alçıgır E, Pekcan M, Vural SA, Özenç E, Canatan HE, Küplülü Ş, Dal GE, Yazlık MO, Baklaci C, Vural MR** (2015): *Characterization of transforming growth factor beta superfamily, growth factors, transcriptional factors, and lipopolysaccharide in bovine cystic ovarian follicles*. Theriogenology, **84**, 1043-1052.
- 19. Rieger D, Loskutoff NM** (1994): *Changes in metabolism of glucose, pyruvate, glutamine and glycine during maturation of cattle oocytes in vitro*. J Reprod Fertil **100**, 257–262.
- 20. Sinclair KD, Kuran M, Gebbie FE, Webb R, McEvoy TG** (2000): *Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen*. J. Anim. Sci, **78**, 2670–2680.
- 21. Tabatabaei S, Mamoei M, Aghaei A** (2011): *Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle*. Comp Clin Path, **20**, 591-595.
- 22. Vanholder T, Opsomer G, De Kruif A** (2006): *Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review*. Reprod Nutr Dev, **46**, 105-119.

Geliş Tarihi: 9/2/2017 Kabul Tarihi: 21/3/2017

Yazışma Adresi:

Murat Onur YAZLIK

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı,

06110, Dışkapı, Ankara

e-posta: yazlik@ankara.edu.tr

Formaldehite maruz kalmış ratlarda böbrek dokusunda mast hücrelerinin dağılımı ve heterojenitesi

Tuğrul ERTUĞRUL*, Gülay ÇİFTÇİ**, Şerife TÜTÜNCÜ***

Öz: Bu çalışmada, formaldehite maruz kalmış ratların böbrek dokusunda mast hücre sayısal dağılımı ve boyanma özellikleri ışık mikroskopik olarak incelenmiştir. Ratlara 15 günlük deney süresi boyunca gün aşırı olarak serum fizyolojik ile 37% oranında sulandırılmış 9 mg/kg dozundaki formaldehit intraperitoneal olarak uygulandı. Işık mikroskopik incelemeler için alınan doku parçaları %10 formol'de tespit edilip yıkandıktan sonra rutin histolojik doku takibi prosedürlerinden geçirilerek parafinde bloklandı. Hazırlanan bloklardan 30µ arayla 5µ kalınlığında 10'ar adet seri kesitler alınarak %0,5'lik toluidin blue ve alcian blue/safranin O (AB/SO) kombine boya metodu ile boyandı. Seri kesitlerde mast hücrelerinin sayısal dağılımını belirlemek amacıyla hücre sayımları 100 kare oküler mikrometre ile

yapıldı. Yapılan incelemelerde formaldehit maruziyeti sonucu böbrekte mast hücrelerinin morfolojik olarak şekillerinde bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Formaldehite maruz kalmış ve sağlıklı ratların böbrek dokularında toluidin blue ile metakromatik ve daha az miktarda ortokromatik boyanan mast hücreleri görülmüştür. Mast hücre sayısının normal böbrek dokusuna oranla formaldehite maruz kalmış rat böbrek dokusunda artış gösterdiği ve formaldehitin mast hücrelerinde degranülasyona neden olduğu belirlenmiştir. Kontrol ve deney gruplarında, çoğunlukla kırmızı renkte SO(+) mast hücreleri ve daha az olarak da soluk boyanan mavi renkte AB(+) mast hücreleri saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: Formaldehit, böbrek, mast hücresi, rat.

* Yrd. Doç. Dr. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 55139 Samsun.

** Doç. Dr. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 55139 Samsun.

*** Doç. Dr. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 55139 Samsun.

Heterogeneity and distribution of mast cells in renal tissues of rats exposed to formaldehyde

Abstract: In this study, numerical distribution and staining aspects of mast cells in renal tissues of rats exposed to formaldehyde were light microscopically examined. During 15-day assay period, rats were intraperitoneally applied every other day with 9 mg/g doses of formaldehyde diluted with physiological saline solution at 37%. After aliquots of tissues collected for microscopic examinations had been identified and washed at 10% formol, they were adopted routine histological tissue evaluation procedures and blocked by paraffin. By obtaining 10 each serial sections every other 30 μ at 5 μ -thickness from prepared blocks, 0,5% toluidin blue and alcian blue/safranin O (AB/SO) were stained by combined staining method. To identify numerical distribution of mast cells at serial sections, cells were counted by 100 square ocular micrometer. That the mast cells in renal did not morphologically change after formaldehyde exposure was observed at the examinations. Metachromatic and less quantities of orthochromatic stained mast cells with toluidin blue were observed at renal tissues of rats that are both healthy and exposed to formaldehyde. It is identified that the number of mast cells has an increase

in renal tissue exposed to formaldehyde in proportion to normal renal tissue of rat. More often red SO(+) mast cells and less often pale stained blue AB(+) mast cells were founded in control and experimental groups.

Keywords: Formaldehyde, kidney, mast cell, rat.

Giriş

Formaldehit, oda sıcaklığında gaz haline geçebilen, suda iyi çözünen, renksiz ve keskin kokulu bir maddedir (1). Düşük dozlarda alındığında duyuşal iritasyona neden olan formaldehit, akut vakalarda uykusuzluk, iştahsızlık, baş ağrısı ve baş dönmesi gibi belirtiler gösterir (2). Deri, sindirim ve solunum sistemi ile vücuda alınan formaldehit boya endüstrisinde, plastik ve tekstil malzemelerinin yapımında, ev temizlik ürünlerinde kullanılmaktadır. Histoloji, anatomi ve patoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan formaldehite, sigara ve eksoz dumanı gibi dış etkenlerle de maruz kalınmaktadır (3). Vücuda alınan formaldehit depo edilmez, eritrositlerde ve karaciğerde formik aside metabolize edildikten sonra üriner ve sindirim sistemi ile dışarı atılır. Solunum sistemi ile de karbondioksite okside olarak vücuttan uzaklaştırılır (4). Formaldehite maruz kalmış ratlarda, metabolik asidoz geliştiği, dolaşım bozukluğu, hematüri ve anüri şekillendiği (5), kanda, üre ve kreatin

değerlerinin yükseldiği yapılan çalışmalarda görülmüştür (6).

Mast hücreleri, kemik iliği öncü hücrelerinden köken alır, granülsüz hücreler olarak kan dolaşımına ve oradan da bağ dokusuna göç edip burada kök hücre faktörü (Stem cell factor=SCF ckit ligand) ve interlökin (IL-3) etkisi ile farklılaşarak karakteristik granüllü hücrelere dönüşürler (7). Mast hücreleri, deri, solunum ve sindirim sistemi gibi vücudun dış ortamla ilişkide bulunduğu antijenlerin vücuda girebileceği yerlerde daha fazla yoğunlaşmışlardır (8). Bu durum mast hücrelerinin yabancı madde girişine karşı savunma mekanizmasında bulunan ilk hücre grupları arasında olmasından kaynaklanır (7). Ayrıca genital sistem ve üriner sistemde bağdokusunda bulunan kan damarlarının ve periferik sinirlerin çevrelerinde yerleşirler (9). Mast hücre granülleri önceden sentezlenip granüllerde depolanan maddeler ve uyarımdan sonra sentezlenen maddeler olmak üzere iki ana grup içinde toplanırlar (10). Mukozal mast hücresi (MMC) ve bağdoku mast hücresi (CTMC) olmak üzere iki alt gruba ayrılan mast hücrelerinin, farklı tespit ve boyama metodları kullanılarak histokimyasal heterojeniteleri belirlenebilir (11). Alcian blue/safranin O (AB/SO) kombine boya metodu ile CTMC granülleri kırmızı, MMC granülleri ise mavi renkte boyanırlar (12).

Viral, bakteriyel ve fungal molekülleri tanıyarak mast hücrelerinin sitokin yapımını ve yangısal cevabı uyardığı bildirilmiştir (13). Travma ve güneş ışığı gibi fiziksel ya da sitokinler gibi immunolojik ve nöropeptidler gibi nörojenik faktörler tarafından uyarıldıklarında granül içeriklerini boşaltarak aktive olabilirler (14). Yapılan çalışmalarda mast hücre sayısının artışı ve degranulasyonunda, gonadal steroidler ve kortikotrop salgılatıcı hormon (CRH) gibi hormonların (15) ve strese neden olacak etkenlerin sebep olduğu gözlenmiştir (16).

Mast hücrelerinin normal böbrek dokusunda bulunduğu ve bazı böbrek hastalıklarında sayısının arttığı bildirilmiştir (17, 18). Diyabetli hastalarda, çeşitli glomerulopatilerde, tubulointerstitiyel fibrozis (17), renovasküler iskemi, reflüks nefropati ve glomerulonefritis (18) gibi bazı böbrek hastalıklarında mast hücrelerinin degranulasyon ve sayısının arttığı saptanmıştır (17, 18).

Formaldehitin üriner sistemde mast hücreleri dağılımı ve boyanma özelliklerine etkisi üzerine yapılan araştırmalar kısıtlı sayıdadır. Yapılan bu çalışmada sistemik olarak uygulanan formaldehitin böbrek dokusunda mast hücrelerinin sayısal olarak artışı, morfolojik değişimi, dağılımı ve heterojenitesine etkisi olup olmadığı araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, laboratuvar hayvanları kullanım prensiplerine uyularak Ondokuz Mayıs Üniversitesi lokal etik kurulu onayı alınarak yapıldı (HADYEK/139/29.10.2010). Çalışmada, optimum laboratuvar koşullarında 22°C sıcaklık, 12 saat karanlık/aydınlık, günlük içme suyu ve standart pelet yemler ile beslenen, ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 12 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar eşit olarak iki gruba ayrıldılar. Kontrol grubundaki sıçanlara gün aşırı olarak intraperitoneal serum fizyolojik verildi. Diğer gruba, yine gün aşırı olarak serum fizyolojik ile 37% oranında sulandırılmış 9 mg/kg dozundaki formaldehit intraperitoneal olarak uygulandı (19). 15 günlük deney süresi sonunda tüm sıçanlar, dekapitasyon yöntemiyle sakrifiye edildi ve böbrek dokuları alındı.

Işık mikroskopik incelemeler için alınan doku parçaları %10 formol'de tespit edilip yıkandıktan sonra rutin histolojik doku takibi prosedürlerinden geçirilerek parafinde bloklandı. Böbrek dokusunun normal histolojik yapısını incelemek amacıyla parafin bloklardan alınan 5 µ'luk kesitlere Crossmon'ın üçlü boyama tekniği uygulandı (20).

Mast hücre sayımı için hazırlanan bloklardan 30µ arayla 5µ kalınlığında 10'ar

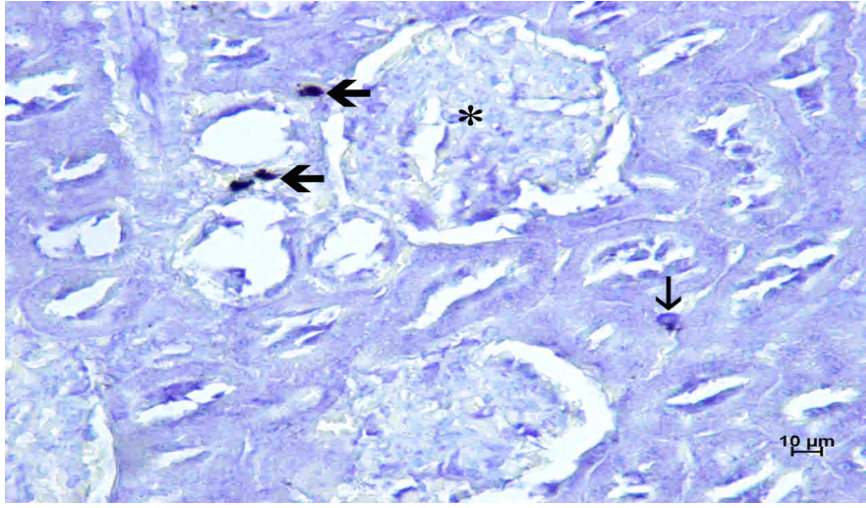
adet seri kesitler alınarak Mc Ilvaine'nin sitrik asit disodyum fosfat tamponunda hazırlanan %0,5'lik toluidin blue ile boyandı. Mast hücrelerinin alt tiplerini ve dokulardaki dağılımlarını belirlemek amacıyla alcian blue/safranin O (AB/SO) kombine boya metodu kullanıldı (21).

Hazırlanan seri kesitlerde mast hücrelerinin sayısal dağılımını belirlemek amacıyla hücre sayımları 100 kare oküler mikrometre ile yapıldı. Oküler mikrometrenin 100 kare birim alanındaki mast hücreleri objektifin 40'luk büyütmesi ile sayıldı (22). Gruplar arasındaki mast hücre sayılarının karşılaştırılmasında SPSS paket programı kullanılarak verilerin varyanslarının homojen olduğu belirlendi ve student-t testi yapıldı (23). Sonuçlar minimum %5 hata payı ile değerlendirildi.

Bulgular

Kontrol grubu ve formaldehite maruz kalmış rat böbreğinde toluidin blue ile boyanan kesitler incelendiğinde, mast hücrelerinin belirgin şekilde metakromazi göstermeleri yanında mavi renkte ortokromatik (Şekil 1) olarak da boyandığı belirlendi.

Her iki gruptaki mast hücreleri arasında herhangi bir morfolojik farklılık gözlenmezken hücreler buldukları yere göre farklı irilikde yuvarlak ya da oval şekillilik gösterdi (Şekil 2). Merkezi veya ekzantrik konumda yerleşmiş

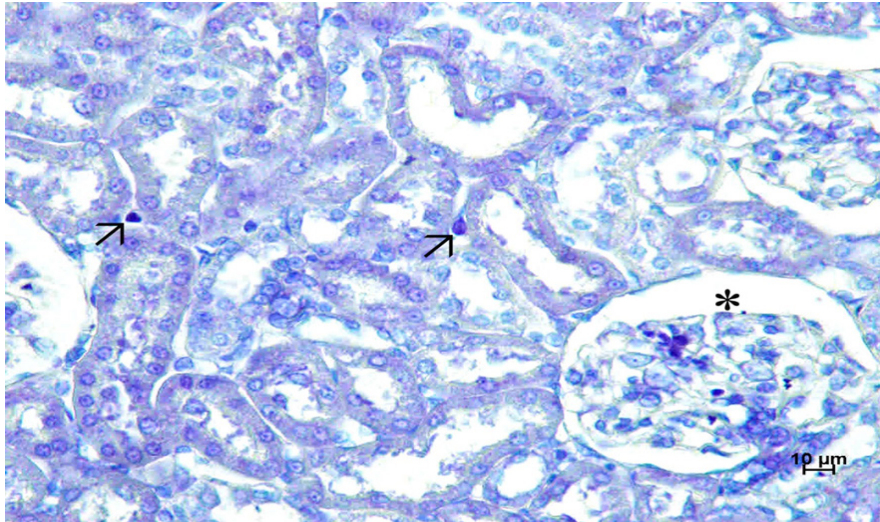


Şekil 1: Deney grubu glomerulus (asteriks) ve böbrek tubulleri arasındaki intersitisyumda ortokromatik (ince ok), metakromatik (kalın ok) mast hücreleri, toluidin blue, 40x.

Figure 1: Orthochromatic (thin arrow), metachromatic (thick arrow) mast cells between glomerulus (asterix) and renal tubules in experimental group, toluidin blue, 40x.

olan çekirdeğin, hücrelerin çoğunda granüller tarafından örtülmüş olduğu saptandı.

Mast hücrelerinin, böbrek korteksinde böbrek tubullerinin arasında, glomerulusların ve kan damarlarının çevresindeki

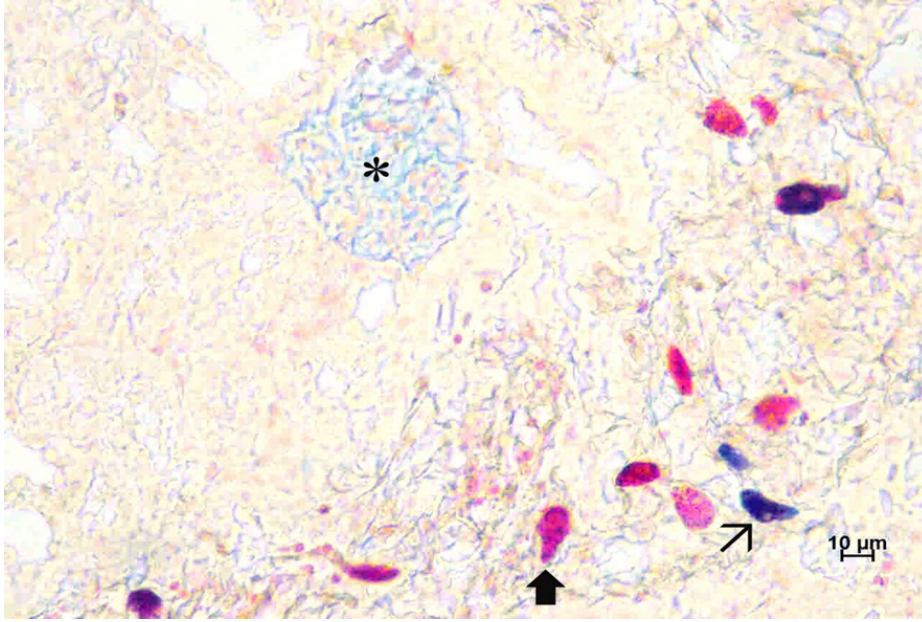


Şekil 2: Kontrol grubu glomerulus (asteriks) ve böbrek tubulleri arasındaki mast hücreleri (ok), toluidin blue, 40x.

Figure 2: Mast cells (arrow) between glomerulus (asteriks) and renal tubules in control group, toluidin blue, 40x.

intersitisyumda, medullada ise böbrek tubulleri ve toplayıcı borucuklar çevresindeki intresitisyumda ve kan damarlarının çevresinde dağılmış olarak bulunduğu belirlendi. AB/SO kombine boyamasında, hem kontrol grubu hem de formaldehite maruz kalmış rat

böbreğinde çoğunlukla kırmızı renkte SO(+) mast hücreleri olmak üzere granülleri kırmızı mavi boyanan AB/SO(+) mast hücreleri (Şekil 3) ve soluk boyanan mavi renkte AB(+) mast hücreleri (Şekil 4) görüldü.

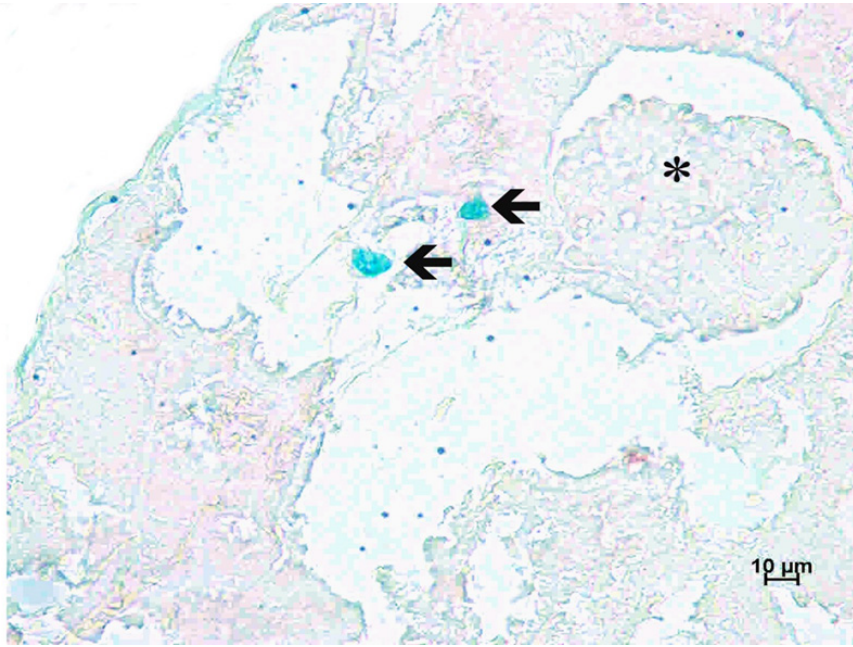


Şekil 3: Kontrol grubu böbrek intersitisyumunda SO(+) (kalın ok), AB/SO(+) (ince ok) mast hücreleri, glomerulus (asteriks), Alcian blue/safranin O, 40x.

Figure 3: SO(+) (thick arrow), AB/SO(+) (thin arrow) mast cell in the intersititium of control group kidney, glomerulus (asteriks), Alcian blue/safranin O, 40x.

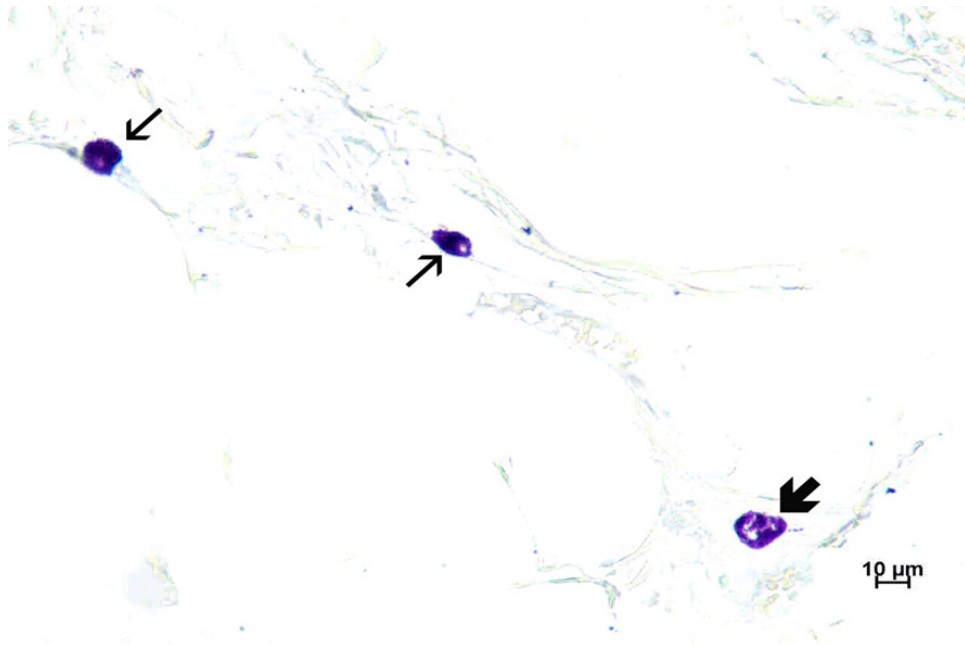
İntraperitoneal formaldehite maruz kalmış ratların böbreklerinde mast hücrelerinin degranulasyona (Şekil 5) uğradığı belirlendi. Mast hücre sayısının formaldehit maruziyetinde kontrol grubuna oranla glomerulusların, böbrek tubullerinin, toplayıcı borucukların ve kan damarlarının çevresinde sayısal olarak arttığı gözlemlendi.

Kontrol ve deney grubunun rastgele seçilen her bir bölgesinden 100 kare birim alanda mast hücreleri sayılıp 1 mm²'lik birim alandaki hücre sayısına dönüştürülerek tablo 1'de verildi. Mast hücre sayıları karşılaştırıldığında, mast hücrelerinin mm² 'deki ortalama sayıları arasında istatistiksel olarak bir fark olduğu saptandı (P<0.001).



Şekil 4: Deney grubu böbrek korteksi, AB(+) mast hücreleri (ok), glomerulus (asteriks), Alcian blue/safranin O, 40x.

Figure 4: Experimental group kidney cortex, AB(+) mast cells (arrow), glomerulus (asteriks), Alcian blue/safranin O, 40x.



Şekil 5: Deney grubu böbrek mast hücreleri (ince ok), degranulasyona uğramış mast hücresi (kalın ok), toluidin blue, 40x.

Figure 5: Experiment group kidney mast cells (thin arrow), degranulated mast cell (thick arrow), toluidin blue, 40x.

Tablo 1: Böbrekte kontrol ve deney gruplarında mast hücrelerinin sayısal dağılımı (mm²).**Table 1:** Numerical distribution of mast cells in control and experimental group (mm²).

Gruplar	n	En düşük değer	En yüksek değer	Ortalama±Std. Hata
Kontrol	6	4.00	4.80	4.35±0.13
Deney	6	8.96	10.08	9.50±0.21
P				***

***: $P < 0.001$

Tartışma ve Sonuç

Yapılan araştırmalarda formaldehit maruziyeti sonucunda metabolik asidoz geliştiği, dolaşım bozukluğu, hematüri ve anüri şekillendiği görülmüştür (5). Mast hücrelerinin böbrekte bazı üriner sistem hastalıklarında sayısının arttığı bildirilmiştir (17, 18).

Hiromure ve ark.'nın (24) insan böbreğinde yaptıkları çalışmada, mast hücre yoğunluğunun glomerulonefritislerde normal böbrek dokusuna oranla daha fazla sayıda olduğu bildirilmiştir. Welker ve ark. (25) hipertansif nefropatilerde mast hücre sayısının beş misli artış gösterdiğinden bahsetmektedir. Solari ve ark.'nın (26) yaptıkları araştırmada reflüks nefropatilerde mast hücre yoğunluğunun artış gösterdiğinden söz edilmektedir. Li ve ark.'nın (27) aşırı protein yüklemesi ile nefropatiye uğratılmış rat böbreğinde, Kuar ve ark.'nın (28) yüksek yağlı diyet verilerek beslenmiş ve böbrek disfonksiyonu yapılmış

ratların böbreklerinde yaptıkları çalışmalarda kontrol grubuna oranla mast hücre sayısında artış olduğu bildirilmektedir. Yaptığımız çalışmada formaldehite maruz kalmış ratların böbreklerinde mast hücre sayısının sağlıklı böbrek dokusuna oranla artış göstermesi yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir.

IgA nefritisli böbrek dokusunda mast hücreleri dağılımı üzerine yapılan çalışmada Ehara ve Shigematsu (29), toluidin blue ile boyanankesitlerde metakromatik boyanan mast hücreleri yanında ortokromatik boyanan mast hücrelerinin de bulunduğunu bildirmişlerdir. Bildiricilerin sindirim sisteminde Uslu ve ark. (30), mast hücrelerinin toluidin blue ile metakromatik ve ortokromatik olarak boyandığından söz etmektedirler. Yapılan bu araştırmada toluidin blue ile boyanan böbrek kesitlerinde mast hücrelerinin, metakromazi göstermeleri yanında az miktarda ortokromatik olarak boyanması araştırmacıların bulguları ile uyum göstermektedir.

Vardı ve ark.'nın (31) yaptıkları araştırmada kronik alkol tüketiminin ratların pankreas mast hücrelerinde degranülasyona neden olduğu söz edilmektedir. Fırat ve ark. (32) ratlarda karaciğer hasarının akciğer dokusuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında akciğer dokusunda mast hücrelerinde degranülasyon olduğu bildirilmektedir. Singh ve ark. (33) ratlarda stresin deride bulunan mast hücrelerinde degranülasyona neden olduğundan söz etmektedirler. Franco ve ark.'nın (34, 35) yaptıkları çalışmalarda formaldehit maruziyeti sonucu ratların akciğerlerinde mast hücrelerinin degranulasyona uğradığı bildirilmektedir. Formaldehite maruz kalmış rat böbreğinde yaptığımız bu araştırmada degranülasyona uğramış mast hücre varlığının tespiti araştırmacıların yaptıkları çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Demirbağ ve ark. (36) araştırmalarında ratların ince bağırsaklarında, ileumda SO(+) ve AB/SO(+) boyanan mast hücresi saptamışlardır. Eren ve ark. (37) uzun dönem pasif sigara dumanına maruz kalmış rat akciğerinde, Ereli ve Çınar (38) ratlarda kalpte yaptıkları çalışmalarında SO(+), AB(+) ve AB/SO(+) mast hücreleri saptamışlardır. Yaptığımız çalışmada deney ve kontrol gruplarında SO(+), AB(+) ve AB/SO(+) mast

hücrelerinin varlığı araştırmacılarla uyum göstermektedir.

Sonuç olarak; mast hücrelerinin intraperitoneal formaldehit maruziyetinde böbrek dokusunda degranulasyona uğraması ve sayıca artış göstermesi yapılan diğer çalışmalarla uyum göstermektedir. Formaldehit maruziyeti ve üriner sistem mast hücreleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar az sayıdadır. Bu çalışmada elde edilen bulguların, formaldehitin mast hücre morfolojisi, boyanma özellikleri ve dağılımı üzerine kaynak oluşturabileceği ayrıca bu konuda yapılacak diğer çalışmalara katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Smith AE (1992): *Formaldehyde*. Occup Med, **42**, 83-88.
2. Zararsız İ, Kuş İ, Yılmaz HR, Pekmez H, Ögetürk M, Sarsılmaz M (2004): *Sıçan Prefrontal Korteksinde Formaldehit Maruziyetiyle Oluşan Oksidatif Hasara Karşı Omega-3 Yağ Asitlerinin Koruyucu Etkisi*. Fırat Tıp Derg, **9(2)**: 35-39.
3. İnci M, Zararsız İ, Davarcı M, Görür S (2013): *Toxic effects of formaldehyde on the urinary system*. Turk J of Urol, **39(1)**: 48-52.
4. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N (2002): *Neurotoxic effects of acute and subacute*

- formaldehyde exposures in mice.* *Envir Toxicol Pharmacol*, **11**, 93-100.
- 5. Til HP, Woutersen RA, Feron VJ, Clary JJ** (1988): *Evaluation of the oral toxicity of acetaldehyde and formaldehyde in a 4-week drinking-water study in rats.* *Food Chem Toxicol*, **26**, 447-52.
- 6. Boj JR, Marco I, Cortés O, Canalda C** (2003): *The acute nephrotoxicity of systemically administered formaldehyde in rats.* *Eur J Paediatr Dent*, **4**, 16-20.
- 7. Wernersson S, Pejler G** (2014): *Mast cell secretory granules: armed for battle.* *Nat Rev Immunol*, **14**(7): 478-94.
- 8. Krystel-Whittemore M, Dileepan KN, Wood JG** (2016): *Mast Cell: A Multi-Functional Master Cell.* *Front Immunol*, **6**, 620.
- 9. Galli SJ** (1993): *New Concept about the Mast Cell.* *N Engl J Med*, **328**, 257-265.
- 10. Gartner LP, Hiatt JL** (2007): *Color Textbook of Histology.* WB. Saunders Elsevier, China.
- 11. Enerback L** (1966): *Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: 1. Effects of Fixation.* *Acta Pathol Microbiol Scand*, **66**(3): 289-302.
- 12. Bancroft JD, Cook HC** (1984): *Manuel of Histological Techniques.* Churchill Livingstone, Inc, New York.
- 13. Mcjurdy JD, Lin TJ, Marshall JS** (2001): *Toll-like Receptor 4-Mediated Activation of Murine Mast Cells.* *J Leukoc Biol*, **70**(6): 977-84.
- 14. Eurell JA, Frappier BL** (2006): *Dellman's Textbook of Veterinary Histology.* Blackwell Publishers, Oxford.
- 15. Silver R, Curley JP** (2013): *Mast cells on the mind: new insights and opportunities.* *Trends in Neurosci*, **36**(9): 513-21.
- 16. Theoharides TC, Stewart, JM** (2015): *Genitourinary mast cell and survival.* *Transl Androl and Urol*, **4**(5): 579-586.
- 17. Madjene LC, Pons M, Danelli L, Claver J, Ali L, Madera-Salcedo IK, Kassas A, Pellefigus C, Marquet F, Dadah A, Attout T, El-Ghoneimi A, Gautier G, Benhamou M, Charles N, Daugas E, Launay P, Blank U** (2015): *Mast cells in renal inflammation and fibrosis: Lessons learnt from animal studies.* *Mol Immunol*, **63**(1): 86-93.
- 18. Holdsworth SR, Summers SA** (2008): *Role of Mast Cells in Progressive Renal Diseases.* *J Am Soc Nephrol*, **19**, 2254-2261.
- 19. Zhou DX, Qiu SD, Zhang J, Wang ZY** (2006): *Reproductive toxicity of formaldehyde to adult male rats and the functional mechanism concerned.* *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, **37**(4): 566-569.

- 20. Crossman G** (1937): *A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved.* Anat Rec, **69**, 33-34.
- 21. Enerback L** (1966): *Mast cells in rat gastrointestinal mucosa: 2. dye-binding and metachromatic properties.* Acta Pathol et Microbiol Scand, **66(3)**: 303-12.
- 22. Böck P** (1989): *Romeis Mikropische Technik.* Urban und Schwarzenberg, Aufl, München, Wien, Baltimore.
- 23. Freld A** (2009): *Discovering statistics using SPSS*, 3rd edition, Sage, London.
- 24. Hironura K, Kurosawa M, Yano S, Naruse T** (1998): *Tubulointerstitial mast cell infiltration in glomerulonephritis.* Am J Kidney Dis, **32(4)**: 539-9.
- 25. Welker P, Kramer S, Groneberg DA, Neumayer HH, Bachmann S, Amann K, Peters H** (2008): *Increased mast cell number in human hypertensive nephropathy.* Am J Physiol Renal Physiol, **295**, F1103-F1109.
- 26. Solari V, Unemoto K, Piotrowska AP, Puri P** (2004): *Increased expression of mast cells in reflux nephropathy.* Pediatr Nephrol, **19(2)**: 157-63.
- 27. Li Y, Zhou L, Liu F, Peng Y, Li J, Sun L, Duan S, Ling G, Chen X, Jiang W, Xia Y** (2010): *Mast cell infiltration is involved in renal interstitial fibrosis in a rat model of protein-overload nephropathy.* Kidney Blood Press Res, **33(3)**: 240-8.
- 28. Reena, Kuar T, Kuar A, Singh M, Buttar HS, Pathak D, Singh AP** (2016): *Mast cell stabilizers obviate high fat diet-induced renal dysfunction in rats.* Eur J Pharmacol, **15**, 777: 96-103.
- 29. Ehara T, Shigematsu H** (1998): *Contribution of mast cells to the tubulointerstitial lesions in IgA nephritis.* Kidney Int, **54(5)**: 1675-83.
- 30. Uslu S, Temur C, Yörük M** (2016): *Erkek bildürün rasyonlarına belirli oranlarda katılan sinir otunun (plantago lanceolata) sindirim sistemi organlarındaki mast hücrelerinin dağılımı üzerine etkisi.* Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, **11(1)**: 84-91.
- 31. Vardı N, Otlu A, Öztürk F** (2002): *Kronik alkol tüketiminin sıçan pankreas mast hücrelerine etkileri.* Erciyes Med J, **24(3)**: 126-132.
- 32. Fırat T, Ulaş N, Terzi EH, Töre F, Kükner A** (2013): *Deneyisel karaciğer hasarının akciğer dokusuna etkisi ve mast hücrelerinin rolü.* Türkiye klinikleri J Med Sci., **33(4)**: 1182-7.
- 33. Singh LK, Pang X, Alexacos N, Letourneau R, Theoharides TC** (1999): *Acute immobilization stres triggers skin mast cell degranulation via corticotropin releasing*

hormone, neurotensin, and substance P: A link to neurogenic skin disorders. Brain Behav Immun, **13(3)**: 225-39.

34. Lino-dos-Santos-Franco A, Domingos HV, Damazo AS, Breithaupt-Faloppa AC, Ligeiro de Oliveira AP, Costa SKP, Oliani SM, Oliveira-Filho RM, Vargaftig BB, de Lima WT (2009): *Reduced allergic lung inflammation in rats following formaldehyde exposure: long-term effects on multiple effector systems.* Toxicology, **256(3)**: 157-63.

35. Lino-dos-Santos-Franco A, Amemiya RM, Ligeiro de Oliveira AP, Damazo AS, Breithaupt-Faloppa AC, Vitoretti LB, Acceturi BG, de Lima WT (2013): *The putative role of ovary removal and progesterone when considering the effect of formaldehyde exposure on lung inflammation induced by ovalbumin.* Clinics **68(12)**: 1528-1536.

36. Demirbağ E, Çınar K, Kutlar MH, Eroğlu G, Sarı SM (2012): *Ratların (Rattus rattus) ince bağırsaklarında mast hücre dağılımı ve heterojenitesi.* SDU Journal of Science (E-Journal), **7(2)**: 92-99.

37. Eren U, Kum S, Sandıkcı M, Kara E (2006): *Effects of long-term passive smoking on the mast cells in rat lungs.* Revue Med Vet, **157(6)**: 319-322.

38. Erekli Ö, Çınar K (2015): *Ratlarda kardiyak mastositlerin istatistiksel olarak dağılımı ve heterojenitesi.* Uludag Univ J Fac Vet Med, **34(1-2)**: 25-33.

Geliş tarihi: 16/2/2017 Kabul Tarihi: 22/3/2017

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Tuğrul ERTUĞRUL

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı,

55139, Samsun.

e-posta: tugrulertugrul06@hotmail.com

Demokrat Parti dönemi hayvancılık politikaları ve veteriner hekimliği hizmetleri*

Savaş Volkan GENÇ**, Atilla ÖZGÜR***

Öz: Türkiye Cumhuriyeti, dış politikasını, II. Dünya Savaşı dışında kalabilmek için sürekli değiştirmiş; savaş sonrasında ise ABD güdümlü bir çizgiye oturtmuştur. Aynı yapılanma Truman Doktrini ve Marshall Yardımı etkisiyle, Türkiye'nin ekonomi politikasında da izlenmiştir. Demokrat Parti iktidarında, Kore Savaşı ile Dünya'da oluşan tarımsal ihtiyaç, Türkiye'nin geleneksel tarım ürünlerinin yüksek getiriye ulaşmasını sağlamıştır. Meraların tarım alanına dönüştürüldüğü bu dönemde hayvancılık da tarım kadar olamasa da gelişme göstermiştir. Demokrat Parti'nin iktidarda olduğu 14.05.1950–27.05.1960 arasında uygulanan hayvancılık politikaları ve veteriner hekimliği hizmetlerini tek ve bütünsel olarak ele almak amacıyla hazırlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Demokrat Parti, Hayvancılık Politikaları, Hükümet Programları, Veteriner Hekimliği Hizmetleri

Livestock policies and veterinary services in “The Demokrat Parti”

Abstract: Republic of Turkey constantly changed its foreign policy in order to stay out of the World War II and after the war, aligned with a line controlled by USA. Same constitution is also continued in the economy policy of Turkey with the support of the Truman Doctrine and the Marshall Aid. The agricultural need occurred at World during Korean War enlisted income from traditional agricultural products of Turkey higher in the power of Democrat Party. As pastures converted into cultivated areas, stockbreeding didn't enhance as agriculture did in that period. This article was prepared to take the applied breeding policies and veterinary services during the power of Democrat Party between 14.05.1950–27.05.1960 in hand totally.

Keywords: Demokrat Party, Government Programs, Livestock Policies, Veterinary Services.

*Bu makale, ilk yazarın; ikinci yazar danışmanlığında yaptığı Doktora Tezi'nden hazırlanmış olup Tez, 2012 yılında 10. Serhat Özyar Yılın Genç Bilim İnsanı Yarışmasında “Seçici Kurul Özel Ödülü”ne değer bulunmuştur.

** Mehmet Âkif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji AD, Burdur.

*** Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji AD, Ankara.

Giriş

Türkiye, II. Dünya Savaşı sonrası için devletçilik–halkçılık temelinde bir kalkınma planı hazırlamış, ancak ABD baskısı ile plan değiştirilerek, karayolu yatırımının ilk sırada yer aldığı, finansın dış yardımlardan beklendiği bir plana geçilmiştir. Bu dönemde kamyon nakliyatına önem verilen, tarım ürünleriyle başlayıp, basit tüketim maddeleri üreten bir politika uygulanmıştır. ABD tarafından Türkiye'ye yapılacak yardımın şeklini belirlemek için Türkiye Hükümeti ile ABD Hükümeti arasında 12 Temmuz 1947'de Ankara'da imzalanan Anlaşma, “*Türkiye'nin hürriyet ve bağımsızlığını korumak için ihtiyacı olan güvenlik kuvvetlerinin takviyesini temin ve aynı zamanda Türk Ekonomisinin istikrarını muhafazaya devam*” gerekçesiyle onanmıştır¹. Türkiye savaş sonrası Avrupa'nın gıda açığının kapatılmasına katkıda bulunacak tarımsal üretim için, 1948'de “*Beş Yıllık Tarım Programı*” adı verilen; hazırlanmasına ABD'li uzmanların da katıldığı, tarımın makineleştirilmesini temel alan bir programı

kabul etmiş; bu konuda ABD ile bir kredi anlaşması² daha imzalanmıştır (10). Demokrat Parti (DP), 14 Mayıs 1950 genel seçiminde %55 oy ve 408 milletvekiliyle iktidara geldiğinde, Merkez Bankası rezervlerinde 102 ton altın, Kars'ta hayvanların, diğerlerinde de yöresine göre değişik tahıl türlerinin ticaretinin yapıldığı 26 borsayı devralmıştır (2, 8, 19). DP iktidarı boyunca (1950-1960) Celal Bayar Cumhurbaşkanı, Adnan Menderes de Başbakan olarak görev yapmıştır. Dönemin Tarım Bakanları Nihat Eğriboz³, Nedim Ökmen (üç kez^{4,5,6}) ve Esat Budakoğlu'dur⁷. Veteriner hekimliği tarihi alanında DP dönemi hayvancılık politikaları ve veteriner hekimliği hizmetlerini içeren bütünsel bir çalışmaya rastlanamamıştır. Makale bu konudaki eksiği gidermek ve benzer çalışmalar ile bu dönemle ilgilenecek araştırmacılara kaynak olması amacıyla hazırlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma gereçleri 1950–1960 yılları arası Resmi Gazeteler ile 1950–2010 tarihleri arasında yayınlanan Veteriner

¹ **Resmi Gazete** (1947): Türkiye Hükümeti ile Amerika Birleşik Devletleri Hükümeti arasında 12 Temmuz 1947 tarihinde Ankara'da imzalan “Türkiye'ye yapılacak yardım hakkında Anlaşma”nın onanmasına dair Kanun, Tarih: 05.09.1947, Sayı: 6699.

² **Resmi Gazete** (1948): Türkiye ile Amerika Birleşik Devletleri arasında 4 Temmuz 1948 tarihinde imzalanan Ekonomik İşbirliği Anlaşması ve Eki ile aynı tarihte teati edilen mektupların onanması hakkında Kanun, Tarih: 13.07.1948, Sayı: 6956.

³ **Resmi Gazete** (1950): TBMM Kararı, Tarih: 23.05.1950, Sayı: 7513.

⁴ **Resmi Gazete** (1951): Yüksek Cumhurbaşkanlığına, Tarih: 03.04.1951, Sayı: 7775.

⁵ **Resmi Gazete** (1957): Başvekâlet yazısı, Tarih: 26.11.1957, Sayı: 9766.

⁶ **Resmi Gazete** (1954): Riyaseticumhur Yüksek Katına, Tarih: 18.05.1954, Sayı: 8710.

⁷ **Resmi Gazete** (1955): TBMM Kararı, Tarih: 17.12.1955, Sayı: 9183.

Hekimler Derneği Dergileri ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (AÜVF) Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji AD Kütüphanesi ve Arşivi ile Başbakanlık Devlet Arşivleri Genel Müdürlüğü Cumhuriyet Arşivi ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı belgeleridir. Makalede, DP'nin, kamu yönetimini, Devlet işleyişi ve kurumların çalışma şekillerini nasıl değiştirdiğini ortaya koymak için uluslararası anlaşmalar ve mevzuat incelenmiş, nesnel değerlendirme için dönemi inceleyen çalışmalardan yararlanılmıştır. Hükümet programları ve TBMM açılış konuşmaları taranmış; konu ile ilgili açıklamalar metin içerisinde verilmiştir. Dokümanlar tematik olarak yazıya aktarılmış, mevzuata ait kaynaklar dipnotlarda gösterilmiştir.

Bulgular

Eğitim öğretim: DP iktidarı süresince veteriner hekimliği eğitim öğretimi konusunda en göze çarpan gelişme; Cumhurbaşkanı Bayar'ın,

TBMM açılış konuşmalarının dördünde^{8,9,10,11} Doğu Bölgesinin kalkınması için Van Gölü çevresinde, bünyesinde veteriner fakültesi (VF) de olan, adının “*Atatürk Üniversitesi*” olacağı bir üniversitenin kurulacağından söz etmesidir. Bu konuda ABD Nebraska Üniversitesi ile Türk uzmanlardan oluşan bir heyetin çalışma yaptığını da anlatmış, ancak iktidarları süresince böyle bir üniversite ve ikinci bir VF kurul(a)mamıştır. Bu süreçte veteriner hekimlerin uzmanlık eğitimleri ile ilgili olarak çıkarılan “*Veteriner Hekim İhtisas Talimatnamesi*”¹² ile klinik, laboratuvar, zootekni alanlarında uzmanlık imkânı sağlanmıştır.

Veteriner hekimliği ve hayvancılık alanında

örgütlenme: DP dönemi veteriner hekimliği ve hayvancılık alanında örgütlenmeleri incelendiğinde 1953 yılında yürürlüğe giren “*At Yarışları Hakkında Kanun*”¹³ ile Tarım Bakanlığı (TB) at yarışları düzenlemekle

⁸ **Resmi Gazete** (1950): Cumhurbaşkanı Celal Bayar'ın Türkiye Büyük Millet Meclisinin dokuzuncu döneminin birinci toplantı yılını açarken Kamutay'daki söylevleri, Tarih: 02.11.1950, Sayı: 7646.

⁹ **Resmi Gazete** (1952): Cumhurbaşkanı Celal Bayar'ın Türkiye Büyük Millet Meclisinin Dokuzuncu Döneminin Üçüncü Toplantı Yılına Açarken Kamutay'daki Söylevleri, Tarih: 03.11.1952, Sayı: 8247.

¹⁰ **Resmi Gazete** (1953): Reiscumhur Celal Bayar'ın Türkiye Büyük Millet Meclisinin dokuzuncu Döneminin dördüncü toplantı yılını Açılış nutukları, Tarih: 02.11.1953, Sayı: 8546.

¹¹ **Resmi Gazete** (1955): Cumhurbaşkanı Celal Bayar'ın Türkiye Büyük Millet Meclisinin Onuncu Döneminin İkinci Toplantı Yılına Açılış Nutukları, Tarih: 02.11.1955, Sayı: 9144.

¹² **Resmi Gazete** (1955): Veteriner Hekim İhtisas Talimatnamesi, Tarih: 02.06.1955, Sayı: 9018.

¹³ **Resmi Gazete** (1953): At yarışları hakkında Kanun, Tarih: 15.07.1953, Sayı: 8458.

yetkilendirilmiş, yetki dört ay sonra 20 yıllığına TJK'ye devredilmiştir.¹⁴ “*At Yarışları Nizamnamesi*”¹⁵ değiştirilerek, Yüksek Komiserler Heyeti'nin Tarım Bakanı'na seçilmesi kararlaştırılmıştır. “*Türkiye Yarış Talimatnamesi*”¹⁶ ile koşularla ilgili kurallar belirlenmiştir. TB Merkez Teşkilatında, “*Tarım Vekâleti Tetkik ve İstişare Heyeti*” adıyla Bakanlığın hizmet konuları ile ilgili plan ve programlar üzerinde inceleme yaparak görüş bildirmek üzere bir teşkilat kurulmuştur¹⁷.

Veteriner hekimliği hizmetlerini düzenlemek, veteriner hekimleri birliği ile odalarını kurmak için 18.03.1954'te 6343 sayılı “*Veteriner Hekimliği Meslekinin İcrasına, Veteriner Hekimleri Birliği ile Odalarının Teşekkül Tarzına ve Göreceği İşlere Dair Kanun*”¹⁸ çıkarılmıştır. Kanun'la Türkiye'de veteriner hekimliği yapabilme şartları belirlenmiş, serbest veteriner hekimliğinin yasal bir zemini oluşturulmuştur. Tüm veteriner hekimler Kanun hükümlerine bağlı kılınarak eşit koşullarda meslek

yapmaları sağlanmıştır. Lisans ve uzmanlık eğitimini yurtdışında yapanların denkliği için collegium sınavı getirilmiştir. Veteriner hekim bulunan şehir, kasaba ve köylerde veteriner hekim olmayanların hayvan hastalıklarını tedavi etmeleri yasaklanmıştır. Türk Veteriner Hekimleri Birliği (TVHB) kurularak, mesleği ülke çıkarları için uygulama, üyelerin maddi ve manevi haklarını koruma, hayvancılığın gelişimi için resmi makamlarla görüş alışverişi yapma, raporlar hazırlama, serbest veteriner hekimlerle TB arasında eşgüdüm sağlama, meslek itibarını artırma ve VF öğrencilerine destek olma gibi yükümlülüklerle görevlendirilmiştir.

“*Et ve Balık Kurumu*”¹⁹ (EBK) Ekonomi ve Ticaret Bakanlığı'na bağlı kurulmuş, et ve balık işlerini düzenleme, ticaret, üretim ve sanayi ile meşgul olma, ilgili her türlü etüt ve araştırmalar yapma, bu amaçla, kasaplık hayvan ve hayvansal ürün ticareti, üretimi, hayvan soylarının ıslah ve gelişimi ile ilgili her türlü çalışmaları yapma, fabrika, mezbaha araç ve tesisatın kurulum ve işletmesiyle

¹⁴ **Resmi Gazete** (1953): Kararnameler, Tarih: 08.11.1953, Sayı: 8577.

¹⁵ **Resmi Gazete** (1956): At Yarışları Nizamnamesinin 4'uncu ve 39'uncu maddelerinin tadili hakkında Nizamname, Tarih: 21.01.1956, Sayı: 9213.

¹⁶ **Resmi Gazete** (1952): Yönetmelik 3203 sayılı Vazife ve Teşkilat Kanununun 9'uncu maddesinin sureti tatbikini gösterir Türkiye Yarış Talimatnamesi, Tarih: 14.04.1952, Sayı: 8059.

¹⁷ **Resmi Gazete** (1954): Tarım Vekaleti Tetkik ve İstişare Heyeti Teşkiline dair Kanun, Tarih: 02.03.1954, Sayı: 8647.

¹⁸ **Resmi Gazete** (1954): Veteriner hekimliği meslekinin icrasına, Veteriner Hekimleri Birliği ile odalarının teşekkül tarzına ve göreceği işlere dair Kanun, Tarih: 18.03.1954, Sayı: 8661.

¹⁹ **Resmi Gazete** (1952): Bakanlar Kurulu Kararları, Tarih: 01.10.1952, Sayı: 8221.

görevlendirilmiştir. Kurum, ayrıca hayvan piyasalarını düzenlemek, fiyat dalgalanmalarını önlemekle yetkilendirilmiştir.

Hayvan hastalıkları ile mücadele: DP iktidarı döneminde “Şap Hastalığı Avrupa Mücadele Komisyonu Kuruluş Anlaşmasına Türkiye’nin Katılması Hakkında Kanun”²⁰ 1955’te kabul edilerek, şap hastalığından dolayı Avrupa’nın kayıplarına karşı ulusal ve uluslararası önlemler almak için bir “Komisyon” kurulmuştur. FAO ile yapılan anlaşma²¹ ile aşı üretim merkezi kurup, çalıştırmak için Türkiye’ye iki uzman getirilmiştir. Hayvan Sağlığı Zabıtası Kanunu (HSZK) değiştirilerek²², TB ihbarı zorunlu hastalıklar listesini hazırlamakla yetkilendirilmiştir. “Hayvan Sağlık Zabıtası Nizamnamesine Enterotoxaemie Bradzo ve İçterohaemoglobinuri hastalıkları hakkında Ek Nizamname”²³ ile enterotoxaemie,^{24*} bradzo ve içterohaemoglobinuri hastalıklarına karşı mücadele esasları belirtilmiştir. Demokrat Parti döneminde 1950’de Samsun Bölge Laboratuvarı, Konya Aşı ve Serum

Enstitüsü, Afyon Hayvan Dispanseri, 1951’de İzmir Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, 1952’de Elazığ Veteriner Bakterioloji Enstitüsü, Kastamonu Hayvan Dispanseri, Çanakkale Hayvan Dispanseri, Çorum Hayvan Dispanseri, 1953’te Van Hayvan Hastanesi, Diyarbakır Hayvan Hastanesi, 1954’te Erzurum Hayvan Hastanesi, 1955’te Aydın Hayvan Dispanseri, 1956’da Urfa Hayvan Dispanseri, 1957’de Edirne Hayvan Dispanseri, 1959’da Diyarbakır Veteriner Bölge Laboratuvarı, Denizli Veteriner Bölge Laboratuvarı, Gaziantep Hayvan Dispanseri, Tokat Hayvan Dispanseri, Balıkesir Hayvan Dispanseri kurulmuş,²⁵ toplam 251.994 hayvan bu kurumlarda tedavi edilmiştir²⁶.

Hayvanlar ve hayvansal ürünler üzerinde vergilendirme: Uluslararası Torquay²⁷ görüşmeleri sonunda, Türkiye taviz listesinde kasaplık hayvan eti, kaz ciğeri, ekşi süttten çocuk mamaları, balık, balık yağları, salamura veya kapalı kaplardaki tütülenmiş hayvansal ürünler, kuru kursak, ham deriler yer almıştır. ABD ile yapılan Vergi Muafiyetleri

²⁰ **Resmi Gazete** (1955): Şap Hastalığı Avrupa Mücadele Komisyonu Kuruluş Anlaşması, Tarih: 01.04.1955, Sayı: 8970.

²¹ **Resmi Gazete** (1955): Kararnameler, Tarih: 21.05.1955, Sayı: 9011.

²² **Resmi Gazete** (1955): Kanunlar, Tarih: 28.05.1955, Sayı: 9014.

²³ **Resmi Gazete** (1960): Kararnameler, Tarih: 06.05.1960, Sayı: 10498.

²⁴ *Enterotoxaemie (Bradzo) ve İçterohaemoglobinuri hastalıkları 11.08.1959 tarihinde yayınlanan bir tebliğ ile ihbarı mecburi hastalıklar arasına alınmıştır (**Resmi Gazete** (1959): Tebliğ, Tarih: 11.08.1959, Sayı: 10276).

²⁵ **Başbakanlık Cumhuriyet Arşivleri (BCA):** 30.01/107.676.1 Cetvel No: 10

²⁶ **BCA:** 30.01/107.676.1 Cetvel No: 13

²⁷ **Resmi Gazete** (1951): Bakanlar Kurulu Kararı, Tarih: 01.10.1951, Sayı: 7920.

Anlaşmasıyla²⁸ ABD, yapacağı herhangi bir dış yardımda tüm vergi ve ücretlerden muaf tutulmuştur. ABD'den ithal edilecek, zirai ve gıda maddelerine 1957'de vergi muafiyeti getirilmiştir.²⁹ Türkiye ile ABD arasında kabul edilmiş olan "Zirai Emtia Anlaşması"nın onayına dair Kanun 14 Haziran 1957'de çıkartılmıştır. Anlaşmaya göre, ihtiyaç fazlası zirai maddelerin, ABD tarafından Türkiye'ye satılmasına ilişkin anlaşmaların ve her iki Hükümetin bu maddelerin ticaretinin geliştirilmesi konusunda alacakları önlemlerin tespit edilmesi planlanmıştır.

Yetiştirme ve Islahı: İhtiyaç fazlası mera arazisinin düzenlenmesi için "Mera Normlarına dair Yönetmelik"³⁰ çıkarılmıştır. "Birleşmiş Milletler Çayır, Mera ve Yem Nebatları Yetiştirme Merkezi" için teknik yardım sağlayacak Anlaşma³¹ uygulamaya konmuştur. "Mera ve Yaylak Norm Talimatnamesi"³² ile hayvan varlık ve gelişmeleri göz önünde tutularak, kültür arazisi ayrıldıktan sonra ihtiyaca göre mera bırakılmasına kararı

verilmiştir. Yerleri değiştirilen çiftçilerin hayvancılık alanında da "üretmen" olmaları için hayvanı olmayan ailelere çift hayvanı verilmesi kararlaştırılmıştır³³. "Islahı Hayvanat Kanunu"nda yapılan değişiklikle³⁴, erkek damızlıkları muayeneye getirmeyen, iğdiş kararı verilen hayvanları sıfatta kullananlara para cezası getirilmiştir. TB'ye suni tohumlama yaptırma, amacıyla enstitü kurulması, uzmanlık kursu düzenlenmesi, suni tohumlama laboratuvarları açılması ve aşım durakları kurma ve damızlığa elverişli olmayan boğa, koç, teke, at ve merkep aygırlarını iğdiş etme yetkisi verilmiştir. Suni tohumlama ücretsiz yapılırken; gerçek ve tüzel kişilerin suni tohumlama kurumu, laboratuvar ve duraklar kurması, suni tohumlama yapma, tohum toplama, satma, bulundurma, taşıma, ithal ve ihraç etmeleri izne tabi kılınmıştır. İthal spermalar tüm vergilerden muaf tutulmuş, dölerme uygulamalarında çalışan başarılı personele ikramiye verilmiştir. DP iktidarı başında 7 merkezde %71,2 başarı ile

²⁸ **Resmi Gazete** (1954): Türkiye ile Amerika Birleşik Devletleri arasındaki Vergi Muafiyetleri Anlaşmasının tasdikına dair Kanun, Tarih: 06.07.1954, Sayı: 8747.

²⁹ **Resmi Gazete** (1957): 5436 sayılı kanuna müsteniden Türkiye Cumhuriyeti Hükümeti ile Amerika Birleşik Devletleri arasında akdedilen Anlaşmalar gereğince ithal olunacak zirai ve gıda maddelerin muafiyeti hakkında Kanun, Tarih: 24.05.1957, Sayı: 9615.

³⁰ **Resmi Gazete** (1950): Bakanlar Kurulu Kararları, Tarih: 22.08.1950, Sayı: 7589.

³¹ **Resmi Gazete** (1954): Kararnameler, Tarih: 04.10.1954, Sayı: 8819.

³² **Resmi Gazete** (1957): Kararnameler, Tarih: 12.04.1957, Sayı: 9584.

³³ **Resmi Gazete** (1951): Yerleri Değiştirilen Çiftçilerin Yerleştirildikleri Yerlerde Üretmen Hale Getirilmeleri, Tarih: 12.04.1951, Sayı: 7783.

³⁴ **Resmi Gazete** (1957): Islahı Hayvanat Kanununun 31'inci maddesinin tadiline ve bu Kanuna bazı maddeler eklenmesine dair Kanun, Tarih: 07.02.1957, Sayı: 9529.

2.892 ineğe ve 4 merkezde %90 başarı ile 5.523 koyuna suni tohumlama yapılırken, 1959 yılında 58 merkez, 67 istasyonda 34500 ineğe (10 yılda 233.895), 161 istasyonda da 134.000 koyuna (10 yılda 548.936) tohumlama yapılmış, 1959'da 482 aşım durağı kurulmuştur.³⁵ Hayvancılık kurumlarından halka 2.107 aygır, 3.060 kısarak, 2.073 tay, 9.498 boğa, 6.067 inek, 1.660 düve, 32.866 koç, 19.069 koyun, 6.294 tiftik teke, 5.688 tiftik keçi damızlık olarak verilmiştir.³⁶ Safkan Arap ve İngiliz atlarının soy kütüğü için çıkarılan Yönetmelikle,³⁷ Merkez Soy Kütüğü Komisyonu: Bakanlık Veteriner İşleri Genel Müdürü, Zootekni Uzman Müşaviri ve Soy Kütüğü Şube Müdürü'nden oluşturulmuştur. Islahı Hayvanat Kanunu değiştirilerek, Türkiye'de doğmuş veya yurtdışından getirilmiş safkan Arap ve İngiliz atlarının bir yıl içinde soy kütüğüne kaydedilmesi hüküm altına alınmıştır.³⁸ Safkan atların gerektiğinde ayrı bir uzman heyete muayene ettirilmesi, bu heyetlerin kesinleşen kararları

aleyhine hakları bozulan yarış atı sahiplerine itiraz hakkı verilmiştir.³⁹ “*Aygır Depoları Talimatnamesi*”nce⁴⁰ depoların, hayvan ıslahı ve yetiştirme hastalıkları üzerine birikim sahibi, zootekni alanında en az beş yıl çalışmış veteriner hekim müdür idaresinde, damızlık sayısına göre bir ilâ üç veteriner hekim şeklinde kadro tür ve sayısı belirlenmiştir. Müdürler, çalıştıkları ilde Islahı Hayvanat Komisyonu doğal üyeliği, yerel sergi ve yarışma komiserliğini de üstlenmişlerdir. Depo nalbantlığı için “*Nalbantlar Kanunu*” ile seyis başları için binicilik okulu mezuniyeti veya askerde süvari çavuşu olma şartı aranmıştır. Almanya ve Türkiye arasında yapılan anlaşmayla örnek çiftlik kurma kararı alınmıştır. Bu konuda çıkarılan Kanun'la⁴¹, Türk-Alman Örnek Çiftliklerinin, TB ve Türk-Alman Cemiyeti ile hazırlanan esaslara göre yönetilmesi, modern ziraat ve hayvancılık yöntemlerinin çiftçilere duyurulması kararlaştırılmıştır. Arazinin TB tarafından ücretsiz sağlanması, giderlerin Türk-Alman

³⁵ **BCA:** 30.01/107.676.1Cetvel No:3, **BCA:** 30.01/107.676.1Cetvel No:11, **BCA:** 30.01/107.676.1Cetvel No: 12

³⁶ **BCA:** 30.01/107.676.1 Cetvel No: 16

³⁷ **Resmi Gazete** (1952): 1946 Safkan Arap ve safkan İngiliz atlarının (Türkiye safkan Arap ve safkan İngiliz atları soy kütüğü) ne Kaydına Dair Yönetmelik, Tarih: 07.05.1952, Sayı: 8103.

³⁸ **Resmi Gazete** (1958): Islahı Hayvanat Kanununun bazı maddelerinin değiştirilmesine dair olan 5883 sayılı kanuna ek Kanun, Tarih: 03.07.1958, Sayı: 9945.

³⁹ **Resmi Gazete** (1960): 904 Sayılı Islahı Hayvanat Kanununun 5883 sayılı kanun ile muaddel 35'inci maddesine bazı hükümler eklenmesine dair Kanun, Tarih: 29.02.1960, Sayı: 10444.

⁴⁰ **Resmi Gazete** (1959): Aygır Depoları Talimatnamesi, Tarih: 27.11.1959, Sayı: 10366.

⁴¹ **Resmi Gazete** (1957): Türk-Alman örnek ve tatbikat çiftlikleri işletmesi kurulmasına dair Kanun, Tarih: 14.05.1957, Sayı: 9606.

Cemiyeti tarafından karşılanması, teftişin TB tarafından yapılması şartları getirilmiştir.

Hayvansal Ürün Üretim ve Ticareti: Gıda maddeleri ve sağlığı ilgilendiren eşyalar için 1952’de çıkarılan Tüzük⁴² ile süt ve süt ürünleri, ham iç yağları, domuz yağları, eritilmiş iç ve kuyruk yağları, rafine hayvan yağları, hayvansal margariner, et ve et ürünleri, yumurta ve konservelerin nitelikleri belirtilmiştir. Tüzük⁴³ 1956’da değiştirilmiş insan gıdası sütlerin nitelikleri, tereyağı, eritilmiş iç ve kuyruk yağı, rafine hayvan yağı üretim işlemleri açıklanmıştır. Süt ve süt ürünleri üretim-satış yerleri ile sütçü hayvanların yaşadıkları ve sağıldıkları yerlerin sağlık koşullarını belirlemek için Nisan 1956’da bir Yönetmelik⁴⁴ çıkarılarak, faaliyet izinleri belediyelere bırakılmış, hayvanların belediyelerce veteriner hekim kontrolünde

bulundurulmaları zorunlu kılınmıştır. Türkiye ile BM, FAO, Milletlerarası Sivil Havacılık Teşkilatı, Milletlerarası Çalışma Teşkilatı ve WHO arasında teknik yardım Anlaşması 1953’de onanarak⁴⁵ gıda muhafazası ve konserve sanayini planlayıp, Türk ürünlerine yeni pazar önerilerinde bulunacak bir uzman görevlendirilmiştir. ABD ile imzalanan “Türkiye’ye Yapılacak Yardım Hakkında Anlaşma” 1955’te değiştirilmiş,⁴⁶ yardım ürünlerinin değerinin belirlenmediği durumlarda, ABD tarafından \$ olarak bildirilen değer TL olarak aktarılması kararlaştırılmıştır. ABD ile zirai ticaretin geliştirilmesi amacıyla hazırlanan “Amerikan Kanunu”⁴⁷ ile Türkiye’ye 3,3 milyon \$ donyağı ve 4,4 milyon \$ dondurulmuş et satışı yapılmıştır. Ayrıca, 1957’de⁴⁸ ABD’nin 30.06.1957’ye kadar Türkiye’nin satın alması

⁴² **Resmi Gazete** (1952): Bakanlar Kurulu Kararı, Tarih: 18.10.1952, Sayı: 8236.

⁴³ **Resmi Gazete** (1956): Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Nizamnamenin bazı madde ve fıkralarının tadili ve 133 üncü maddesine bir fıkra ilavesi ve bazı madde ve fıkralarının da ilgası hakkında Nizamname, Tarih: 28.04.1956, Sayı: 9296.

⁴⁴ **Resmi Gazete**(1956):Süt ve mamullerinin istihsal ve satışına mahsus mahal ve levazım ile süt veren hayvanların yaşadıkları ve sağıldıkları yerlerin sıhhi şartlarının tesbitine dair Talimatname, Tarih: 30.04.1956, Sayı: 9297.

⁴⁵ **Resmi Gazete** (1953): Türkiye Hükümeti ile Birleşmiş Milletler, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı, Milletlerarası Sivil Havacılık Teşkilatı, Milletlerarası Çalışma Teşkilatı ve Dünya Sağlık Teşkilatı arasında teknik yardım teminine mütedair Esas Anlaşma ve eklerin onanması hakkında Kanun, Tarih: 10.07.1953, Sayı: 8454.

⁴⁶ **Resmi Gazete** (1955): Türkiye ile Amerika birleşik devletleri arasında 12/7/1947 tarihinde Ankara’da imzalanan (Türkiye’ye Yapılacak Yardım hakkında Anlaşma)nın onanmasına dair 1 Eylül 1947 tarih ve 5123 numaralı kanunun ikinci maddesine bir fıkra ile ayrıca geçici bir madde eklenmesine dair Kanun, Tarih: 31.05.1955, Sayı: 9016.

⁴⁷ **Resmi Gazete** (1959): Zirai maddeler ticaretinin geliştirilmesi ve yardımlaşma hakkındaki muaddel Amerikan Kanununun 1’inci kısmı hükümleri gereğince Türkiye Cumhuriyeti Hükümeti ile Amerika Birleşik Devletleri Hükümeti arasında münakit 12 Kasım 1956 tarihli Anlaşmanın tasdiki hakkında Kanun, Tarih: 11.06.1959, Sayı: 10228.

⁴⁸ **Resmi Gazete** (1959): Zirai maddeler ticaretinin geliştirilmesi ve yardımlaşma hakkındaki muaddel Amerikan Kanununun 1’inci kısmı hükümleri gereğince Türkiye Cumhuriyeti Hükümeti ile Amerika Birleşik Devletleri Hükümeti arasında 12 Kasım 1956 tarihli Anlaşmaya ek 25 Ocak 1957 tarihli Anlaşmanın tasdiki hakkında Kanun, Tarih: 11.06.1959, Sayı: 10228.

için 500.000 \$ konserve sığır eti, 600.000 \$ peynir, 30.000 \$ süttozu finansmanını temin edeceği belirtilmiş, 1959'da⁴⁹ ihtiyaç fazlası 15,4 milyon \$ yem 400.000 \$ tereyağı, 200.000 \$ yağlı süttozu, 1,3 milyon \$ peynir ve 300.000 \$ yağsız süt tozu Türkiye'ye satılmıştır.

Tartışma ve Sonuç

Türkiye'ye, II. Dünya Savaşı sonrası yıkılan Avrupa'nın tekrar kalkınmasında, tarım ve madencilik alanında hammadde üreten bir rol verilmiş, ABD'den alınan ilk krediler alt yapı inşası için kullanılmış, 1950'de silo inşalarına başlanmıştır. Bir dönem gizli olarak sınıflandırılan dış ticaret istatistikleri⁵⁰ bu politika içerisinde ABD'ye verilmiştir. ABD, Türkiye'nin kendi bürokratlarına hazırlattığı bağımsız kalkınma planlarını, yardım şantajıyla durdurmuş, kapitalist Avrupa'nın ihtiyaçları için tarıma dayalı sanayi ve üretilen tahılın limanlara kolay nakli için karayolu ağı kurulmuştur (20). Bu bilgileri ışığında Atatürk döneminin bağımsız ekonomi-politikalarından uzaklaşmaya başlandığı söylenebilir.

Hayvan Islah Kanunu'nda değişikle, ithal ve damızlık hayvanların soy kütüğüne kayıt zorunluluğu, kümes hayvanlarına vergi

muafiyeti, ücretsiz suni tohumlama imkânı ve suni tohumlama kurumlarında çalışan başarılı personelin ödüllendirilmesi hayvancılığın teşvik için olumlu adımlardır (21). Suni tohumlama çalışmalarının haralarda başarısının ardından kurulan tohumlama istasyonlarının hizmetleri üretici tarafından ilgi görmüştür. Bunun devamında çevre köylerden oluşan talep motorlu araç kullanımını getirmiş böylece suni tohumlama hizmetleri daha geniş alanlarda yapılmıştır (1,13). Dölerme çalışmaları sonrası sığır varlık ve niteliğinde sağlanan artış, ABD yardımlarının Türk hayvancılığına pozitif yansımaları olarak kabul edilebilir.

Bradzo ve ichteroheamoglobinurie gibi hastalıkların ihbarı zorunlu hastalıklar listesine eklenmesi, hayvan hastalıkları mücadelesi için kurumlar açılması, tazminat bareminin genişletilmesi salgın hayvan hastalıkları ile mücadelede olumlu çabalar olarak değerlendirilebilir. Şap hastalığıyla uluslararası mücadele ve aşı üretim merkezi kurulması için teknik bilgi almak amacıyla yapılan çalışmalar da uluslararası bilimsel işbirliği örneği olarak kabul edilebilir. Ayrıca, ihbarı zorunlu hastalıklar listesini hazırlama yetkisinin Bakanlar Kurulu'ndan alınarak TB'ye devri, salgın hayvan hastalıkları ile hızlı

⁴⁹ **Resmi Gazete** (1959): Zirai maddeler ticaretinin geliştirilmesi ve yardımlaşma hakkındaki muaddel Amerikan Kanununun 1'inci kısmı hükümleri gereğince Türkiye Cumhuriyeti Hükümeti ile Amerika Birleşik Devletleri Hükümeti arasında 12 Kasım 1956 tarihli Anlaşmaya müsteniden 20 Ocak 1958 tarihinde akdedilen Anlaşmanın tasdıkı hakkında Kanun, Tarih: 11.06.1959, Sayı: 10228.

⁵⁰ **BCA**: 030.10/268.805.20

ve etkin mücadele için önemli bir uygulama olarak düşünülebilir.

“*Veteriner Hekimliği Meslekinin İcrasına, Veteriner Hekimleri Birliği ile Odalarının Teşekkül Tarzına ve Göreceği İşlere Dair Kanun*” veteriner hekimliği yapabilme, mesleki uygulamalarını güvence altına alma ve serbest veteriner hekimliğin yasal bir zeminde önünü açılması açısından önemli bir adımdır (12, 15). Tüm veteriner hekimlerin Kanun hükümlerine bağlı kılınarak eşit koşullarda mesleğini yapmaları günümüzden daha ileri bir tutum olarak değerlendirilebilir. Daha iyi bir veteriner hekimliği eğitimi adına; uzmanlık şartlarının açıklanması, lisans ve uzmanlık eğitimini yurtdışında yapanların denkliği için collegium sınavı getirilmesi olumlu bir karardır. Veteriner hekim bulunan şehir, kasaba ve köylerde veteriner hekim olmayanların hayvan hastalıklarını tedavi etmeleri yasaklanarak hayvan sağlık memurlarına yönetmelikle izni verilmesi, veteriner hekim olmayan yerlerde hayvan sağlığı hizmetlerinin yürütülmesi açısından önemlidir. Kurulun Türk Veteriner Hekimleri Birliği (TVHB) ile mesleği ülke çıkarları için uygulama, üyelerin maddi ve manevi haklarını koruma, hayvancılığın gelişimi için resmi makamlarla görüş alışverişi yapma, raporlar hazırlama, serbest veteriner hekimlerle TB arasında eşgüdüm sağlama, meslek itibarını

artırma ve VF öğrencilerine destek olma gibi yükümlülüklerle görevlendirilmesi o zamana kadar Türk Veteriner Hekimler Derneği tarafından yapılan bu hizmetlerin (11), meslek örgütü çatısında yapılmasını sağlamıştır. Veteriner hekim odalarının onayı olmadan veteriner hekim istihdam edilememesi, veteriner hekimliği hizmetlerinin sistemli yapılması açısından olumlu değerlendirilebilir. Yüksek Haysiyet Divanı üyelerinin toplantılarının TB gözetim ve denetimi altında olması kararların uygulanmasının etkinliği açısından olumlu olsa da sivil toplum kuruluşu yapısına ters düştüğü söylenebilir. Ancak yine de Yasa Türk Veteriner Hekimleri ve Türk Veteriner Hekimliği açısından bir devrim olarak değerlendirilebilir.

Halk sağlığını korumak için, hayvansal kökenli gıdaların niteliklerinin belirlenmesi, süt veren hayvanların belediyelerce veteriner hekim kontrolünde bulundurulması, tam yağlı inek yoğurdunun içeriğinin belirlenmesi, veteriner hekimlerin halk sağlığı konusunda yetkilendirilip, zoonozların önlenmesi ve nitelikli hayvansal gıda üretilmesi açısından olumlu değerlendirilebilir.

TVHB Merkez Konseyi, TJK'yı, at yarışlarının sevk ve idaresi konusunda görevlerini layıkıyla yapamadığı şeklinde eleştirmiş ve durumun TB Müfettişlerince tespit edildiğini söyleyerek, at yarışlarının

VİGM'ye devrini istemiştir (6). Bu durum anılan dönemde atçılığın gelişimi için çok önemli olan -at yarışları düzenleme-konusunda TJK'nın çok da başarılı olmadığını düşündürebilir.

EBK, yaşanan et sıkıntılarında büyük şehirlerde et fiyatlarının normal seviyede tutulmasını sağlama görevi yanı sıra sebze ve meyve piyasasına da müdahale etmek zorunda kalmıştır.^{51,52} Alpan (3) EBK'nın bu konuda sadece birkaç büyük şehrin bazı semtlerinde etkili olduğunu söylerken, Koç (14) dondurulmuş balık satışlarını başarılı bulmamış, idari kadroda veteriner hekimlerin olmaması açısından da eleştirilmiştir (5, 6, 18). Ancak, tüm bu eleştirilere rağmen EBK, halkın sağlıklı ve ucuz ete ulaştığı, üreticiye güvenli bir pazar sağlayan yararlı bir kuruluş olarak değerlendirilebilir.

Cumhurbaşkanı Celal Bayar'ın adını dahi koyduğu, meclis açış konuşmalarında defalarca dile getirdiği yeni bir VF açılmasının ABD tarafından hazırlanan rapor ile durdurulması, DP üzerindeki ABD baskısına delil gösterilebilir. Bilimsel işbirliği altında ABD'nin VF'yi gereksiz görmesi ve Türk hükümetinin bu doğrultuda

hareket etmesinin o dönem veteriner hekim ihtiyacı düşünüldüğünde^{53*} Türk hayvancılığı açısından son derece yanlış bir tutum olduğu söylenebilir.

Menderes, artan hayvan sayısına karşın, azalan meraların hayvansal üretim için tehlike yarattığını, entansif üretim zorunluluğunu, 1954 yılı Hükümet Programında ayrıntılarıyla anlatmıştır.⁵⁴ Yine mera ve yem bitkileri üretimi konularında teknik yardım için uluslararası işbirliği anlaşmaları dahi yapılmıştır. Ancak, zirai üretime ağırlık verilmiş, ithal edilen traktörlerle birlikte Kore Savaşı'nın yarattığı tarımsal ürünlerin değer kazanması mera konularında yapılan tüm çalışmaları boşa çıkarmıştır (11). Mera alanlarının daraltılması ve verimlerinin düşmesine karşın hayvan sayısındaki artış verim ve toplam üretimi olumsuz etkilemiştir (7). Meraları tarlaya dönüştürmede traktöre kavuşan büyük toprak sahipleri oldukça kârlı çıkarken hayvanları otlatmak için bulamama sıkıntısı doğmuştur (17). Mera ve yem bitkileri üzerinde önemle durulduğu dile getirilmesine rağmen yaşanan büyük mera kıyımıyla, Türk hayvancılığının çok büyük bir yara aldığı sonucu çıkartılabilir.

⁵¹ **Resmi Gazete** (1956): Kararnameler, Tarih: 06.03.1956, Sayı: 9251.

⁵² **Resmi Gazete** (1956): Kararnameler, Tarih: 20.10.1956, Sayı: 9438.

⁵³ *1950 – 281 veteriner hekim, 312 hayvan sağlık memuru, 1959 – 875 veteriner hekim, 694 hayvan sağlık memuru. **BCA**: 30.01/107.676.1 Cetvel No: 9

⁵⁴ **Resmi Gazete** (1954): Başvekil Adnan Menderes tarafından 24/05/1954 tarihinde Büyük Millet Meclisinde okunan Hükümetin Programı, Tarih: 27.05.1954, Sayı: 8717.

Büyük toprak sahipleri ve ticaret burjuvazisinin temellerini oluşturduğu DP döneminde dış yardımla traktöre kavuşan Türkiye, meraların ekim alanına dönüşmesiyle zirai ürünleri bol miktarda üretmiş ve ihraç etmiştir. DP'nin seçmen kitlesinin tarımsal üretimlerinin karşılığını ekonomik açıdan aldığı bu dönem siyasi açıdan karşılığını bulmuş, aynı politika ısrarla sürdürülmüştür. Bağımsız, planlı bir ekonomi-politika izlenmemesi Türk hayvancılığına da yansımış, parlak görünen üretim, mücadele ve hizmet rakamları o dönemde ülke içine bir virüs gibi yerleşen ABD etkisini gizlemiş, uzun kuluçka döneminin ardından Türk Veteriner Hekimliği ve hayvancılığında yarattığı etkileri ancak günümüzde karşımıza çıkmıştır. Hayvancılıkta ulaşılan rakamlar artış gösterse de temel yaklaşımda yapılan hatalar DP döneminde hayvancılık politikaları ve veteriner hekimliği hizmetlerinin Türk Veteriner Hekimliğinde bir tarih sorununu değil, gelecek sorununu doğurduğu ileri sürülebilir.

Kaynaklar

1. **Adaoğlu A** (1971): *Personel kanundaki yan ödemeler ve suni tohumlama çalışmaları*. Vet Hekim Der Derg, **41**, 39-47.
2. **Akad MT** (1989): *Türkiye'de Amerikan Dış Yardımı*. In.: Emperyalizm ve Türkiye, İstanbul, Patika Yayıncılık, s.: 32.
3. **Alpan O** (1973): 50 Yılda Türk hayvancılığı. Vet Hekim Der Derg, **9-10**, 219-227.
4. **Anon** (1954): *Türk Veteriner Hekimleri Derneğinin 1954 Yılı Çalışma Raporudur*. Vet Hekim Der Derg, **98-99**, 1945-1947.
5. **Anon** (1959): *Türk Veteriner Hekimleri Derneğinin 1959 Yılı Kongresine Ait Zabıt Hülasasıdır*. Vet Hekim Der Derg, **150**, 171-175.
6. **Anon** (1961): *Tarım Bakanlığı Yüksek Makamına*. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Merkez Konseyi 1960-1961 Yılı Çalışma Raporu, Ankara, s.:11-14.
7. **Anon** (1973): *Türkiye hayvancılığının son yarım yüzyıldaki gelişimi ve ana sorunları*. Türk Vet Hekim Der Derg, **43**, 203-209.
8. **Avcıoğlu D** (1990): *Türkiye'nin Düzeni Dün-Bugün-Yarın* Birinci Kitap, Tekin Yayınevi, s.: 464-584, İstanbul.
9. **Başçavuşoğlu N** (1956): *Veteriner Hekimlerin 3. Kongresi Münasebetiyle*. Vet Hekim Der Derg, **116-117**, 3023-3024.
10. **Demirci E** (2007). *Çok Partili Sisteme Geçiş Sürecinde CHP'de İdeolojik Arayışlar* (1945-1950). Yüksek Lisans Tezi, T.C. Marmara Üniversitesi Türkiyat Araştırmaları Enstitüsü Türk Tarihi Anabilim Dalı Cumhuriyet Tarihi Bilim Dalı, İstanbul.
11. **Dinçer F** (1988): *Cumhuriyet döneminde ekonomik kalkınmamızda hayvancılık ve veteriner hekimliğin yeri*. Vet Hekim Der Derg, **58**, 12-20.

12. Evren C (1954): *Yeni başarılarla doğru.* Vet Hekim Der Derg, **92-93**, 1511-1516.

13. Gökçen H (1981): *Hayvansal üretimde suni tohumlamanın yeri ve önemi.* Vet Hekim Der Derg, **52**, 5-19.

14. Koç F (1964): *Türkiye’de balıkçılığın durumu.* Vet Hekim Der Derg, **9-10**, 350-359.

15. Kolaylı Ş (1954a): *Veteriner hekimleri kanunu münasebetile.* Vet Hekim Der Derg, **92-93**,1443-1445.

16. Kolaylı Ş (1954b): *Kongrenin yaklaşması münasebetiyle topluca fikir teatisi.* Vet Hekim Der Derg, **98-99**, 1797-1802.

17. Oktar S, Varlı A (2010): *Türkiye’de 1950–54 döneminde Demokrat Parti’nin tarım politikası.* Marmara Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi, **28**, 1-22.

18. Saguner RA (1961): *Et ve et endüstrisi problemi.* Vet Hekim Der Derg, **174-175**, 79-84.

19. Tezel SY (1982): *Cumhuriyet Döneminin İktisadi Tarihi.* Yurt Yayınları, s: 165-243, Ankara.

20. Uyanık AL (1978): *Hayvancılığımıza Bakış Açısı.* Vet Hekim Der Derg, **48**, 3-5.

21. Yerlikaya H, Özgür A (2006): *Cumhuriyet döneminde hayvan ıslah kanunu.* Vet Hekim Der Derg, **77**, 39-43.

Geliş Tarihi: 28/12/2016 Kabul Tarihi: 26/03/2017

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Savaş Volkan GENÇ

Mehmet Âkif Ersoy Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji AD,

İstiklal Yerleşkesi, Burdur / TÜRKİYE

e-posta: svgenç@mehmetakif.edu.tr

Uçucu yağların etlik piliçlerde besi performansı, karkas randımanı, Newcastle hastalığı ve enfeksiyöz bronşitis antikör seviyeleri ile bazı serum parametreleri üzerine etkisi*

Taner ÇETİN**, Gültekin YILDIZ***

Öz: Bu araştırma rasyonlara ilave edilen uçucu yağların etlik piliçlerde canlı ağırlık (CA), canlı ağırlık artışı (CAA), yem tüketimi (YT), yemden yararlanma oranı (YYO), sıcak karkas randımanı ile Newcastle Hastalığı (ND), Enfeksiyöz Bronşitis (IB) antikör titreleri, kan serumu trigliserit ve toplam kolesterol seviyelerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada erkek ve dişi karışık olmak üzere toplam 320 civciv kullanılmıştır. Araştırma, 1 kontrol ve 3 deneme grubu olmak üzere toplam 4 grup halinde yürütülmüş olup her grup toplam 80 civcivden oluşmaktadır. Her bir deneme grubu yirmişer civciv içeren 4 alt gruba ayrılmıştır. Deneme süresi altı haftadır. Araştırmada her bir gruba civciv döneminde (0-21. günler) % 23 HP ve 3200 kcal/kg ME, piliç döneminde ise (21-42. günler) %20,5 HP ve 3400 kcal/kg ME

içeren rasyonlar hazırlanmıştır. Araştırmada, 1.deneme grubu 500 mg/kg Salinomisin, 2. deneme grubu 500 mg/kg Salinomisin + 300 mg/kg uçucu yağ (Oregostim-Polimed) ve 3. deneme grubu rasyonu da 300 mg/kg uçucu yağ içerecek şekilde hazırlanmıştır. Deneme grupları 1, 2, ve 3 de 35. güne kadar CA, iki, üç ve beşinci haftalarda CAA, ikinci haftada YT, dördü, beş ve altıncı haftalarda YYO üzerine etkisi gözlenmiştir (P<0,05). Fakat bu farklılık YYO hariç altıncı haftada ortadan kalkmıştır. Rasyona ilave edilen Salinomisin, uçucu yağ + Salinomisin ve uçucu yağ katkısının YYO üzerine etkisi gözlenmiştir (P<0,05). Uçucu yağ + Salinomisin katkılı 2. deneme grubunda uçucu yağ grubu ve salinomisin grubuna göre YYO daha düşüktür. Salinomisin ve uçucu yağ katkısının sıcak karkas ağırlığı, karkas randımanı, serum kolesterol miktarı, ND ve IB

* Birinci yazarın Doktora tezinden özetlenmiştir.

** Veteriner Hekim, Taner Veterinerlik Ltd. Şti.

*** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Dışkapı, Ankara.

titreleri üzerine etkisi görülmemiştir. Uçucu yağ grubunda serum trigliserit miktarları en düşük düzeyde bulunmuştur ($P<0.01$).

Anahtar sözcükler: Etlik piliç, besi performansı, uçucu yağ, yemden yararlanma oranı

The effects of the use of supplemental essential oils on performance, carcass yield, Newcastle disease and infectious bronchitis antibody levels, and on some serum parameters in broilers

Abstract: This study has been conducted to determine the effects of essential oils, as a supplement to broiler rations, on live weight, live weight gain, feed consumption, feed conversion ratio, carcass yield, and on Newcastle Disease, Infectious Bronchitis, serum antibody levels and total cholesterol and triglyceride levels in broilers. In the experiment 320 male and female (mix) broiler chicks were used. The experiment was carried out with four groups: one control group and three treatment groups, each containing 80 chicks. Each group, then, was divided into four replicate groups of 20 chicks. The experiment was conducted for six weeks. From day 0 to day 21, the chicks were fed with the starter diet (CP % 23; ME 3200 kcal/kg), and from day 22 till day 42, that is when the experiment was terminated, with the adult diet (CP % 20,5; ME

3400 kcal/kg). In the study, diets of treatment group 1 was supplemented with 500 mg/kg Salinomycin, group 2 was supplemented with 500 mg/kg Salinomycin + 300 mg/kg essential oils and group 3 was supplemented with only 300 mg/kg essential oils. In treatment groups 1, 2, and 3 live weight (from day 0 till day 35), live weight gain (second, third and fifth weeks), feed consumption (second week), feed conversion ratio (fourth, fifth and sixth weeks) were significantly affected ($P<0,05$). But these effects were disappeared at the end of the experiment except the feed conversion ratio. Feed conversion ratio of Group 3 is higher than Group 2 and Group 1. Statistically significant effects were not observed on carcass yield, carcass weight, blood cholesterol level, ND and IB antibody levels. However, triglyceride level of Group 3, being the minimum of the 3 groups ($P<0,05$), was significantly affected ($P<0,05$).

Keywords: Broiler, essential oil, feed conversion ratio, performance

Giriş

Bilimsel çalışmalarda ve yetiştiricilikte büyütme faktörlerine alternatif olarak sentetik kimyasallardan ziyade doğal ürünlerin arayışı başlanmıştır. Bu doğal maddeler bakterileri öldürebilmeli ve hayvanların sindirim sistemini geliştirmeli, büyüme genetik potansiyelini

yakalayabilmelidir. Büyütme faktörlerine alternatif ürünler içinde en önemlisi aromatik bitki ve çeşitleridir (33).

Bitkilerden distilasyon yolu ile elde edilen esansiyel yağların aktif bileşenlerinin bakteriyostatik, bakterisit, fungusit (15), antikoksidiyal (22) özelliklerinin olduğu, patojen mikroorganizmaların kontrolünde, antioksidan olarak kullanımında, sindirim enzimleri aktivitesinin ve azot emiliminin uyarılmasında, gübre ile meydana gelen çevre kirliliğinin azaltılmasında, gıdaların raf ömrünün uzatılmasında başarılı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir. Yeme veya suya, bitki ekstraktlarının ilave edilmesi bazı çalışmalarda yem tüketimi, yemden yararlanma ve karkas kalitesini önemli düzeyde iyileştirmiştir (15, 40). Uçucu yağların karakteristik tatlarından ötürü; antimikrobiyal etki için kullanım miktarının göz önünde bulundurulması (26), farklı uçucu yağların birlikte kullanılması ile oluşan sinerjistik etkinin faydalı olabileceği (28), sinerjik etki ile düşük konsantrasyonlarda dahi antimikrobiyal aktivitelerinin arttığı (11, 31), bildirilmiştir.

Bu çalışmada etlik piliç rasyonlarına katılan uçucu yağların CA, CAA, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, sıcak karkas randımanı ile ND, IB antikor titreleri, kan serumu trigliserit ve toplam

kolesterol seviyelerine etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırmada hayvan materyali olarak dişi ve erkek karışık olmak üzere 320 adet bir günlük yaşta etlik civciv kullanılmıştır. Her biri 80 civcivden oluşan 4 grup düzenlenmiş ve her bir grup 20 hayvan içeren 4 alt gruba ayrılmıştır. Hayvanlara birinci günden 21. güne kadar etlik civciv yemi (% 23 HP ve 3200 kcal/kg ME), 21. günden 42. güne kadar etlik piliç yemi (% 20,5 HP ve 3400 kcal/kg ME) verilmiştir (Tablo 1). Denemede bir kontrol ve üç deneme rasyonu oluşturulmuştur. Birinci deneme grubu rasyonuna 500mg/kg Salinomisin ve ikinci deneme grubu rasyonuna 500mg/kg Salinomisin + 300 mg/kg uçucu yağ (Oregostim-Polimed) üçüncü deneme grubu rasyonuna ise 300 mg/kg uçucu yağ (Oregostim-Polimed) ilave edilmiştir. Uçucu yağ (*Origanum vulgare* spp. *Hirtum*) yapısında % olarak a-pinene 0.86, Myrcene 0.61, a-Terpinene 0.62, 1,8- Cyneole 0.18, g-terpinene 2.07, p-cimene 8.76, 1-octen-3-ol 0.37, b-caryophyllene 1.50, a-terpineol 0.42, g-alemene 0.20, b-bisatolene 0.15, Carvacrol acetate %0,86 ve thymol %2.45 düzeyinde yer almaktadır.

Tablo 1: Araştırmada Kullanılan Rasyonlarının Bileşimi (%)**Table 1:** The composition of the ration (%)

Yem maddeleri	Civciv dönemi (0-21. günler)	Piliç dönemi (21-42. günler)
Mısır	38,5	40,2
Buğday	15	15
Soya küspesi	25	17
Tam yağlı soya	13,5	18
Et-kemik unu	3	3
Bitkisel yağ	2	4
Kireç taşı	1	1
DCP	1,25	1
Tuz	0,25	0,25
Vit+Min karması	0,25	0,25
Metiyonin	0,25	0,3
Hesapla bulunan değerler		
Ham protein, %	22,00	20,00
ME, kcal/kg	3000	3200

* Vitamin karması: her bir kilogram vitamin karması 14 000 000 IU A vit, 4 000 000 IU D3 vit, 80 g E vit, 30 g K3 vit, 3 g B1 vit, 8 g B2 vit, 40 g niasin, 12 g pantotenik asit, 6 g B6 vit, 0,03 g B12 vit, 2 g folik asit, 0,15 g biotin, 50 g C vit içermektedir.

** Mineral karması: her bir kilogram mineral karmasında 150 g Mn, 120 g Fe, 150 g Zn, 14 g Cu, 0,4 g Co, 3 g Se bulunmaktadır.

Yemler her dönem için ayrı ayrı hazırlanmış olup hayvanlar fresh olarak ad libitum şeklinde verilmiştir.

Yemlerin ham besin madde miktarları AOAC (3)'da bildirilen metotlara göre belirlenmiş, metabolize olabilir enerji düzeylerinin hesaplanmasında ise Leeson ve Summers (24)'ün önerdiği formül kullanılmıştır:

$$ME, kcal/kg = 53+38 [(\%ham\ protein) + (2,25x\%ham\ yağ) + (1,1 \times \%nişasta) + (\%şeker)]$$

Hayvanlar haftalık bireysel olarak tartılarak tartımlar arasındaki farktan canlı ağırlık artışları hesaplanmıştır. Haftalık yemliklerde

kalan yem miktarından her alt grubun haftalık tükettiği yem miktarı bulunmuştur.

Bu miktar mevcut hayvan sayısına bölünerek yem tüketimleri, tekrar grupları ve grupların ortalamaları olarak hesaplanmıştır.

Hayvanların deneme başlangıcından itibaren iki tartım aralığında tükettikleri ortalama yem miktarı, bu iki tartım aralığında belirlenen ortalama canlı ağırlık artışlarına bölünerek yemden yararlanma oranları bulunmuştur.

Denemenin 42. günü her alt gruptan 3 hayvan kesilerek bağırsakları ayrılmıştır.

Her hayvana ait karaciğer, kalp, taşlık, dalak, böbrek ve bursa fabricius tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir. Söz konusu bu organların

ağırlıkları kesim öncesi canlı ağırlıklara bölünerek, randımanları hesaplanmıştır.

Sıcak karkas ağırlığını bulmak amacı ile kesim işlemi tamamlanıp bağırsak ayrıldıktan sonra karkas tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir. Sıcak karkas ağırlıkları kesim öncesi ağırlıklara bölünerek sıcak karkas randımanları hesaplanmıştır.

Araştırma sonunda servikal dislokasyon sırasında her tekrar grubundan üçer hayvandan kan alındıktan sonra kanlar santrifüj edilmiş ve kan serumları ayrılmıştır. Serumlar analizler yapılana kadar -20°C 'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Kan serumlarında kit kullanılarak, toplam kolesterol (GLOBE Diagnostics S.R.I. Italy GD034000 ve toplam trigliserit-L (GLOBE Diagnostics S.R.I. Italy GD081500) spektrofotometik olarak (Shimadzu digital spektrofotometre, UV-1208, seri no: A1012 3400051 YS) saptanmıştır.

Aşılama ve Antikor Titresinin Belirlenmesi; araştırmada hayvanlar 5. günde Newcastle ve İnfeksiyöz Bronşitis hastalığına karşı aşılanmıştır. Deneme süresince tüm aşılama içme suyuna ilave yolu ile yapılmıştır. Maternal antikor ve Newcastle hastalığına (ND) karşı oluşan spesifik antikor düzeyi hemaglutinasyon inhibisyon testi ile İnfeksiyöz Bronşitis (IB) antikor düzeyi ELİZA (Allan ve Gough, 1974) yöntemi ile Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D laboratuvarında tespit

edilmiştir. Maternal antikor ile 42. gün kesim kanı ND, IB bakımından karşılaştırılmıştır. Civcivlere 14. ve 21. günlerde Gumboro aşısı yapılmıştır. Kan örneklerinin santrifüj yardımı ile serumları ayrılmış ve kullanılıncaya kadar -20°C 'de bekletilmiştir.

Gruplar arasında ve her grubun alt grupları arasında ki farklılığın grup ve alt grupların birlikte etkisini test etmek amacı ile istatistiksel analizler yapılmıştır. Bu amaçla ortalama CA değerleri arasındaki farklılığın önemliliği için iki yönlü varyans analizi uygulanmıştır. Ayrıca CAA, YYO, ve YT ile titre değerleri arasında farklılığın önemliliği için Kruskal Wallis; karkas, trigliserit ve kolesterol değerleri arasındaki farklılığın önemliliği için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. İstatistik analizler SPSS 10,0 (Inc., Chiago, II, USA) programında gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Araştırma süresince gruptan elde edilen haftalık ortalama canlı ağırlıklar (CA), Tablo 2'de gösterilmektedir. Birini, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci haftada kontrol grubunun daha iyi ağırlık verdiği ($P<0,001$), kesim haftası olan altıncı hafta değerlerinin birbirine yakın olduğu ($P>0.05$) görülmektedir. Gruplara ait ortalama CAA değerleri ilk 14 ($P<0,05$), 21 ($P<0,01$) ve 28. ($P<0,05$) günlerde kontrol grubunda daha fazla görülmüştür (Tablo 3). Beşinci ve altıncı hafta değerleri önemsiz bulunmuştur.

Tablo 2: Denemelere ait grupların haftalık ortalama canlı ağırlık değerleri (g) ($x \pm Sx$)**Table 2:** Effects of essential oils on broiler live weight (g) ($x \pm Sx$)

Gün	Kontrol	Salinomisin	Salinomisin+Uçucu Yağ	Uçucu yağ	P
0	46,8 ± 0,39	47,6 ± 0,39	46,9 ± 0,39	48,3 ± 0,39	0,381
7	165,6 ± 2,27 a	158,6 ± 2,27 b	150,3 ± 2,27 c	159,2 ± 2,27 b	<0,001***
14	406,5 ± 5,57 a	376,3 ± 5,57 cb	368,1 ± 5,57 c	387,3 ± 5,57 b	<0,001***
21	839,8 ± 9,87 a	703,7 ± 9,87 b	719,3 ± 9,87 b	786,5 ± 9,87 b	<0,001***
28	1273,8 ± 15,22 a	1082,2 ± 15,88 d	1155,3 ± 15,22 c	1216,0 ± 15,22 b	<0,001***
35	1799,2 ± 22,74 a	1709,4 ± 23,74 b	1764,9 ± 22,74 a	1735,7 ± 22,74 b	0,062***
42	2227,5 ± 31,66	2220,5 ± 32,82	2281,9 ± 31,5	2218,7 ± 31,5	0,447

a,b,c: Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir. -: $P > 0,05$, ***: $P < 0,001$

Tablo 3: Denemelere ait grupların haftalık ortalama canlı ağırlık artışı (g) ($x \pm Sx$)**Table 3:** Effects of essential oils on broiler body weight gain (g) ($x \pm Sx$)

Günler	Kontrol	Salinomisin	Salinomisin+Uçucu Yağ	Uçucu yağ	P
0-7	118,2 ± 5,81	111,3 ± 3,05	102,6 ± 3,91	112,2 ± 2,70	0,109
7-14	242,7 ± 6,94 a	217,7 ± 5,46 b	217,8 ± 2,7 b	228,2 ± 1,72 a	0,008**
14-21	433,1 ± 22,43 a	327,3 ± 7,49 b	351,2 ± 11,2 b	399,6 ± 14,02 a	0,001**
21-28	434,02 ± 45,8	378,5 ± 13,4	436 ± 9,76	429,2 ± 10,8	0,347
28-35	525,3 ± 34,8 b	627,2 ± 20,7 a	609,6 ± 8,6 a	519,5 ± 27,4 b	0,017*
35-42	427,1 ± 18,14	511,7 ± 46,6	517,05 ± 22,6	483,4 ± 17,3	0,160
0-42	2178,4 ± 87,7	2173,2 ± 53,7	2234,1 ± 36,8	2171,8 ± 26,7	0,836

a,b,c: Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir. -: $P > 0,05$; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; n=4

Gruplara ait ortalama YT değerleri Tablo 4'de verilmektedir. Buna göre YT değerleri ikinci hafta kontrol grubunda artmış ($P < 0,05$) diğer haftalarda etkilenmemiştir. Gruplara ait ortalama YYO değerleri Tablo 5'de verilmektedir. Buna göre YYO değerleri dördüncü hafta salinomisin grubunda ($P < 0,05$),

beşinci hafta kontrol ve uçucu yağ grubunda ($P < 0,01$), altıncı hafta kontrol grubunda artmış ($P < 0,05$) diğer haftalarda etkilenmemiştir.

Gruplara ait karkas ağırlıkları ve karkas randımanları (Tablo 6) verilmiştir. Gruplar arasında farklılık önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$).

Tablo 4: Denemelere ait grupların haftalık ortalama yem tüketimi (g) ($x \pm Sx$)**Table 4:** Effects of essential oils on broiler feed intake (g) ($x \pm Sx$)

Gün	Kontrol	Salinomisin	Salinomisin+Uçucu Yağ	Uçucu yağ	P
0-7	159,42 \pm 9,74 a	138,6 \pm 1,70 b	131,6 \pm 3,01 c	133,1 \pm 1,49 bc	0,009**
7-14	356,7 \pm 6,78 a	317,7 \pm 5,86 c	319,4 \pm 13,59 c	337,5 \pm 4,94 b	0,023*
14-21	640,5 \pm 16,86	574,2 \pm 12,09	555,7 \pm 32,03	600,7 \pm 13,26	0,058
21-28	689,0 \pm 52,59	642,7 \pm 21,54	550,0 \pm 27,17	631,2 \pm 13,26	0,061
28-35	1052,0 \pm 17,09	1084,7 \pm 37,43	1082,7 \pm 7,26	1045,5 \pm 7,23	0,456
35-42	1017,2 \pm 54,59	1018,0 \pm 87,52	1133,5 \pm 23,60	1091,7 \pm 11,13	0,362

a,b,c: Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir.

-.: $P > 0,05$; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$

Tablo 5: Grupların haftalık ortalama yemden yararlanma oranları**Table 5:** Effects of essential oils on broiler feed conversion ratio

	Kontrol	Salinomisin	Salinomisin+Uçucu Yağ	Uçucu yağ	P
0-7	1,34 \pm 0,061	1,24 \pm 0,027	1,28 \pm 0,031	1,18 \pm 0,029	0,075
7-14	1,47 \pm 0,039	1,45 \pm 0,015	1,46 \pm 0,047	1,47 \pm 0,019	0,984
14-21	1,48 \pm 0,041 c	1,75 \pm 0,082 a	1,58 \pm 0,083 b	1,50 \pm 0,022 bc	0,007**
21-28	1,60 \pm 0,095 b	1,69 \pm 0,016 a	1,26 \pm 0,061 d	1,47 \pm 0,063 c	0,003**
28-35	2,02 \pm 0,13 a	1,72 \pm 0,033 b	1,78 \pm 0,024 b	2,02 \pm 0,095 a	0,039**
35-42	2,38 \pm 0,068 a	1,99 \pm 0,064 c	2,19 \pm 0,065 b	2,26 \pm 0,083 ab	0,016**

a,b,c: Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir.

-.: $P > 0,05$; **: $P < 0,01$

Tablo 6: Grupların ortalama karkas ağırlıkları (g) ve sıcak karkas randımanları (%) ($x \pm Sx$)**Table 6:** Effects of essential oils on broiler carcass weight (g) and carcass percentage (%) ($x \pm Sx$)

	Kontrol	Salinomisin	Salinomisin+Uçucu Yağ	Uçucu yağ	P
Kesim canlı ağırlık, g	2142,5 \pm 49,9	2135,8 \pm 41,2	2180,5 \pm 45,5	2094,3 \pm 34,4	0,575
Sıcak karkas ağırlığı, g	1584,3 \pm 40,05	1580,7 \pm 36,5	1643,2 \pm 35,9	1542,5 \pm 29,06	0,243
Sıcak karkas randımanı,%	73,91 \pm 0,28	73,95 \pm 0,46	75,4 \pm 0,60	73,6 \pm 0,47	0,342

Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir ($P>0,05$).

Grupların kan serumu toplam trigliserit değerleri (Tablo 7), ele alındığında antikoksidial + uçucu yağ ile uçucu yağ katkı grupları arasında önemli farklılık ($P<0,01$) olduğu, en düşük değerlerin uçucu yağ katkı grubunda, en yüksek değerlerin antikoksidial + uçucu yağ katkı grubunda olduğu belirlenmiştir. Toplam trigliserit değerleri kontrole göre antikoksidial grupta %28,84; antikoksidial + uçucu yağ katkı grubunda %51,46 artış

olurken uçucu yağ katkı grubunda %24,68 düzeyinde bir azalış gerçekleşmiştir.

Grupların kan serum toplam kolesterol değerleri (Tablo 7) kontrol, antikoksidial, antikoksidial + uçucu yağ ve uçucu yağ içeren gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). En yüksek değer kontrolde olduğu, uçucu yağ katkı grubunda kolesterol değerinin kontrole göre %17,57 düştüğü belirlenmiştir.

Tablo 7: Denemelere ait gruplardaki kesilen hayvanların ortalama serum trigliserit ve kolesterol miktarları (mg/dl)**Table 7:** Effects of essential oils on serum cholesterol and triglycerid (g) ($x \pm Sx$)

	Kontrol	Salinomisin	Salinomisin+Uçucu Yağ	Uçucu yağ	P
Trigliserit	31,48 \pm 4,86 bc	40,56 \pm 5,96 ab	47,68 \pm 3,73 a	23,71 \pm 4,03 c	0,005**
Kolesterol	94,65 \pm 7,48	75,54 \pm 8,24	91,16 \pm 6,92	78,02 \pm 7,49	0,209

a,b,c: Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir

** : $P<0,01$

Antikor titreleri civcivlerden ilk gün alınan kan serumlarında NDV spesifik maternal antikorlar HI testinde 6,8 bulunmuştur. Aşılama sonrası kesim kanından yapılan HI test sonuçları Tablo 8’de verilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde NDV antikorları yönünden gruplar arası fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Denemede ayrıca kesim aşamasında alınan kanlarda

IBV antikorları ELISA ile test edilmiştir. Bu test sonucunda gruplardaki antikor titreleri kontrol grubunda 649; 1.deneme grubunda 872, 2.deneme grubunda 565, 3. deneme grubunda 451 bulunmuştur. Test sonuçlarında IBV antikorlarının çoğunluğunun düşük titrede ve negatif olması nedeniyle gruplar arası istatistiksel bir analiz/değerlendirme yapılmamıştır (Tablo 8).

Tablo 8: Denemelere ait grupların ND ve IB titreleri

Table 8: Effects of essential oils on ND and IB level

	Kontrol	Salinomisin	Salinomisin+Uçucu Yağ	Uçucu yağ	P
ND	6,8	7,00± 0,275	6,90 ± 0,344	6,90 ± 0,336	0,960
IB	750	649± 8,75	872± 9,34	565± 6,23	0,660

Gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir ($p>0,05$).

Denemede gruplara ait ölüm oranları incelendiğinde kontrol grubunda %1, antikoksidiyal grubunda %6, antikoksidiyal +uçucu yağ grubunda %1 ölüm olmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Canlı ağırlık bakımından deneme grupları ile kontrol grubu arasında gözlenen farklılık deneme grupları arasında gözlenmiştir. Uçucu yağ katkılı 2. ve 3. deneme gruplarının 7-28. günler arasında kontrolden önemli düzeyde düşük bulunması ($P<0,001$) Lee ve ark. (21) ‘nın 200 ppm timol ve 200 ppm carvacrol kullanarak yürüttüğü çalışma sonuçlarına benzer bulunmuştur. 28. gün sonuçları en

yüksek canlı ağırlığın kontrol grubunda en düşük canlı ağırlığın antikoksidiyal katkılı 1. deneme grubunda olduğunu ($P<0,001$) göstermiştir. Bu durum 28 günde canlı ağırlığın kontrol grubundan farklı olmadığı bildirimleri ile (14) uyumlu değildir. Deneme sonu olan 42. günde canlı ağırlık bakımından gruplar arasındaki farklılığın ortadan kalktığı tespit edilmiş ve bu durum kimi araştırmacılar (6, 16, 17, 23, 26) tarafından bildirilmiştir. Buna karşın birçok araştırmacı (3, 5, 21, 34, 38, 39) uçucu yağ ilavesinin canlı ağırlığı arttırdığını tespit etmişlerdir. Bu farklılık

uçucu yağ eldesi, bileşimi, çevre şartları ile bağlantılı olabilir.

Canlı ağırlık bakımından antikoksidiyal olarak kullanılan Salinomisin grubunun da uçucu yağ grubu gibi kontrol grubundan 7-35. günler arasında düşük olduğu ve farklılığın istatistiksel öneme sahip olduğu görülmektedir. Saini ve ark. (29)'nin çalışmasında da bu durum gözlenmektedir. Avilomisin gibi büyütme faktörlerinin uçucu yağlar ile birlikte ve ayrı ayrı kullanıldığı birçok çalışmada (9, 33) benzer; kiminde (1, 6, 20, 35) kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüştür. Çördük ve ark. (9)'nin çalışmasında Avilomisin grubu canlı ağırlık değerleri ile uçucu yağ katkılı gruplar arasında 28-42. günler arasında fark olmadığı belirlenmiştir.

Şimşek ve ark. (34) 40. günde en yüksek canlı ağırlık sıralamasının 200 mg/kg kekik yağı, 10 mg/kg avilomisin, 100 mg/kg kekik yağı, kontrol, 400 mg/kg kekik yağı katkılı gruplarda tespit etmiştir. Catala ve ark. (7), 100 ppm uçucu yağ ve 10 ppm avilomisin ilavesinin kontrole göre daha fazla canlı ağırlık değerleri elde edildiğini bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada 21-35. günler arasında salinomisin katkılı grup değerlerinin uçucu yağ katkılı gruptan daha düşük canlı ağırlık değerleri gösterdiği tespit edilmiştir. Deneme sonu 42. günde ise gruplar arasındaki farklılık

bazı araştırmalarda (33) olduğu gibi ortadan kalkmıştır. Farahat ve ark. (13) üzüm ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların canlı ağırlıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Wang ve ark. (37) kadife çiçeği ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların canlı ağırlıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Denemelere ait grupların haftalık ortalama canlı ağırlık artışları (Tablo 2) incelendiğinde uçucu yağ katkılı 3. grup değerleri ($P<0,01$) kontrole yakın bulunmuştur. Deneme sonunda ise farklılık ortadan kalkmıştır. Hernandez ve ark. (16) avilomisin (10 mg/kg) katkısının 200 ppm uçucu yağa göre kontrolden iyi, 500 ppm uçucu yağ ilaveli gruptan düşük CAA verdiğini göstermiştir ($P>0,05$).

Canlı ağırlık artışı bakımından Çörtük ve ark (9) 0-21. günler arasında farkı önemsiz, 0-42. günler arasındaki farklılığı önemli ($P<0,05$) bulmuşken; yapılan bu çalışmada kontrol ve uçucu yağ katkılı grupta 0-21. günler arasında diğer gruplardan yüksek ($P<0,01$) CAA elde edilmiş, ancak 0-42. günler arasında gruplar arasındaki fark önemsiz ($P>0,05$) bulunmuştur. Sonuçlar Infante-Rodríguez ve ark (17) çalışması ile uyum göstermektedir. Farahat ve ark. (13) üzüm ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların canlı ağırlık artışları

arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Shawle ve ark (30) yaptıkları çalışmada uçucu yağ kullanımının canlı ağırlık artışı artırdığını ifade etmişlerdir. Wang ve ark. (37) kadife çiçeği ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların canlı ağırlık artışları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Uçucu yağların yem tüketimini düşürdüğünü ($P<0,05$) (1, 15, 22, 34) bildiren araştırmalar olduğu gibi uçucu yağların kullanımının yem tüketimi açısından bir farklılık olmadığını bildiren (8, 12, 23, 32, 39) araştırmalar da mevcuttur. Shawle ve ark (29) yaptıkları çalışmada uçucu yağ kullanımının yem tüketimini artırdığını ifade etmişlerdir.

Alçıçek ve ark. (1, 2) uçucu yağların yem tüketimini artırdığını bildirmiştir. Bu durum uçucu yağların kullanımında yem tüketimi genelde düştüğünü ancak fark olmadığını bildiren araştırmalarda küşümsenmeyecek düzeyde fazla olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmada (Alçıçek ve ark. 2004) uçucu yağ ve salinomisin + uçucu yağ kullanımında kontrole göre %1,9 ve 3,6 düzeyinde bir düşüklük söz konusu olmuş ancak bu durum önemli bulunmamıştır.

Denemelere ait grupların haftalık ortalama yemden yararlanma oranlarının 4-6 haftalar arasında önemli olduğu belirlenmiştir.

Bu durum antikoksidyal (salinomisin) katkısının yemden yararlanmayı iyileştirdiğini göstermektedir. Uçucu yağların YYO iyileştirdiğini bildiren birçok araştırma (6, 7, 8, 9, 11, 17) mevcuttur. Buna karşın birçok araştırmada (14, 22, 35, 36) ise değerlerin kontrolden farklı olmadığı belirtilmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz yemden yararlanma oranındaki % 1,7' lik iyileşme ($P>0,05$), söz konusu literatür bildirimleri ile uyumlu bulunmuştur.

Altı hafta uçucu yağ ilavesinin yemden yararlanma oranının iyileşmesine önemli bir katkısının olmadığı görülmektedir. Uçucu yağların YYO'nı kötüleştirdiğini bildiren araştırmalar enderdir. Kamel ve Jamroz (19) ise YYO'nun kötüleştiğini belirtmiştir. Farahat ve ark. (13) üzüm ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların yemden yararlanma oranları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Antikoksidyal katkısının yemden yararlanma oranına etkisinin uçucu yağlardan daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum kimi araştırmacıların (8, 12, 17, 18, 19) çalışmaları ile uyum göstermektedir.

Catala ve ark. (7) en düşük YYO'nı 0-35. günler arasında avilomisin grubunda, en yüksek ise kontrol grubunda bulmuş, uçucu yağ grubu arada ve her biriyle istatistik

bakımından önemli ($P<0,01$) bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada ise 0-35. günler incelendiğinde en düşük değer antikoksidiyal +uçucu yağ katkılı grupta bulunmuş diğer gruplar birbirlerine yakın değere sahip olmuşlar, gruplar arasında önemli farklılık bulunmamıştır ($P>0,05$). Wang ve ark. (37) kadife çiçeği ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların yemden yararlanma oranı arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Kesim işlemi sonucunda grupların ortalama karkas ağırlıkları ve karkas randımanları Tablo 6'da gösterilmiştir. Kesim CA değerlerinin kontrol grubu ile antikoksidiyal, antikoksidiyal +uçucu yağ ve uçucu yağ gruplarında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı ($P>0,05$) saptanmıştır. Bu sonuçlar Infante-Rodríguez ve ark (17) ile Şimşek ve ark (33) 'nın bildirimleri ile uyum göstermektedir. Shawle ve ark (30) yaptıkları çalışmada uçucu yağ kullanımının da karkas parametrelerini istatistiksel olarak etkilemediğini bildirmişlerdir. Aynı sonuçları Avcı (4) ile Çördük ve ark (9)'da vermiştir. Buna karşın uçucu yağ ilavesinde karkas randımanının kontrolden daha iyi olduğu bildirimleri (1,2)'de mevcuttur. Yapılan bu araştırmada en iyi karkas ağırlığı ve randımanı antikoksidiyal + uçucu yağ içeren

grupta elde edilmiş, kontrole göre %2 daha iyi bulunmuştur. Wang ve ark. (37) kadife çiçeği ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların karkas parametreleri üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Leeveark(22)carvacrolilavesindetrigliserit değerlerinin azaldığını ($P<0,05$), kolesterol değerlerinin değişmediğini bildirmişlerdir. Kolesterol ve tigliserit değerlerinin uçucu yağ ilavesi ile değişmediğini Suk ve ark (32)'da belirtmişlerdir. Lee ve ark (24, 25) uçucu yağ ilavesinde trigliserit ve kolesterol düzeylerinin önemli düzeyde etkilenmediğini belirtmişlerdir. Elde edilen trigliserit ve kolesterol verileri Lee ve ark (23)'nın verileri ile uyumlu bulunmuştur. Buna karşın kimi araştırmacıların (22, 24, 25, 32, 33) trigliserit verileri ile uyuşmamakta, kolesterol verileri ile uyuşmaktadır. Buna karşın Shawle ve ark (30) yaptıkları çalışmada uçucu yağ kullanımının trigliserit ve kolesterol düzeylerinin önemli oranda azalttığını bildirmişlerdir.

Jamroz ve Kamel (18) uçucu yağların etlik piliçlerde yağın daha yüksek seviyede sindirilmesini etkilediğini belirtmişlerdir. Bu durumda trigliserit düzeyinin yükselmesi gerekir. Bu durum antikoksidiyal+ uçucu yağ katkılı gruplardaki trigliserit düzeyi artışına bir açıklama getirebilir. Halbuki uçucu yağ katkılı grupta bu gruplara kıyasla trigliserit seviyesi

önemli ölçüde ($P<0,01$), kontrole göre ise matematiksel olarak düşmüştür. Bu düşme Jang ve ark (19)'nın esansiyel yağ+laktik asit karışımının pankreas enzimleri ve bağırsak enzimleri aktivitesini artırması ile bağlantılı olabilir. Farahat ve ark. (13) üzüm ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların toplam kolesterol seviyesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Araştırmada denemelere ait gruplarda Newcastle hastalığına karşı aşılama sonucu oluşan spesifik antikor düzeyleri gruplar arasında önemli bir fark göstermemiştir. Bu değerler ND titresini üzerine uygulama gruplarının etkisi olmadığını göstermektedir. Civcivlerden ilk gün alınan kan serumlarında NDV spesifik maternal antikorlar HI testinde kontrol ve deneme grupları olan antikoksidial, antikoksidial + uçucu yağ ve uçucu yağ ilaveli gruplarda sırasıyla 7.00; 6,90; 6,90; 7,10 bulunmuştur. Aşılamalar sonrasında kesim kanından yapılan HI test sonuçları Çizelge 8' de verilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde NDV antikorları yönünden gruplar arası fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Denemede ayrıca kesim aşamasında alınan kanlarda IBV antikorları ELISA ile test edilmiştir. Bu test sonucunda gruplardaki antikor titreleri kontrol ve deneme grupları olan antikoksidial, antikoksidial + uçucu yağ

ve uçucu yağ ilaveli gruplarda sırasıyla 649, 872, 565, 451 bulunmuştur. Test sonuçlarında IBV antikorlarının çoğunluğunun düşük titrede ve negatif olması nedeniyle gruplar arası istatistiksel bir analiz/değerlendirme yapılmamıştır. Yapılan bu çalışmada uçucu yağın ilavesi ile immun yanıtta önemli bir farklılığın belirlenememesi kullanılan karma yemin kaliteli olmasından, hijyenik ortamın sağlanmasından ve hayvanların stresli olmamasından kaynaklanmış olabilir. Farahat ve ark. (13) üzüm ekstraktı ile yaptıkları çalışmada grupların Newcastle hastalığı aşılmasına karşı antikor titreleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu bildirmişlerdir.

Antikoksidial grubunda 6, kontrol ve antikoksidial + uçucu yağ gruplarında birer hayvan ölmüştür. Antikoksidial olarak salinomisin kullanılan grupta gözlenen 6 adet ölümün nedeni *E. tenella* olmuştur.

Sonuç olarak; yemden yararlanma oranı 0-42. günler arasında en yüksek değerler kontrol ve uçucu yağ içeren grupta bulunmuş, bunu salinomisin ve salinomisin + uçucu yağ grupları takip etmiştir ($P<0,05$). Kan grubu trigliserit değerlerinin uçucu yağ + antikoksidial içeren 2. deneme grubunda diğer gruplardan daha yüksek olduğu, en düşük değerlerin ise uçucu yağ içeren 3. deneme

grubunda olduğu bulunmuştur (P<0.01). Gruplarda en yüksek ölüm antikoksidiyal grubunda (%6) olmuş, yapılan otopsilerde E. tenella bulunmuş, ölümlerin nedeni buna bağlanmıştır. Kullanılan uçucu yağ düzeyi broyler rasyonları için güvenilir olmanın yanı sıra performans için önemli faydalar sağlamıştır. Uçucu yağların kan değerleri üzerine olan olumlu etkileri bu yem katkı maddesinin rasyonda kullanımı için farklı açılardan da elverişli olduğunu göstermiştir.

Kaynaklar

1. **Alçiçek A, Bozkurt M, Çabuk M** (2003): *The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on Broiler performance*. S Afr J Anim Sci, **33**, 89-94.
2. **Alçiçek A, Bozkurt M, Çabuk M** (2004): *The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or probiotics on broiler performance*. S Afr J Anim Sci, **34**, 217-222.
3. **AOAC** (2000): *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th Ed. AOAC international, Maryland.
4. **Avcı S** (2004): *Etlik piliç karma yemlerinde bitkisel ekstrakt kullanımının besi performansına etkileri*, Ç Ü, Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans tezi), Adana.
5. **Botsoglou NA, Florou-Paner P, Christaki E, Fletouris DJ, Spais AB** (2002): *Effect of*

dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. Br Poult Sci, **43**, 223-230.

6. **Bozkurt M, Çatlı, AU, Küçükylmaz K, Çınar M, Bintaş E** (2007): *Etlik piliç yemlerine organik asit ve esansiyel yağ karışımı ile kombinasyonlarının ilave edilmesinin besi performansı üzerine etkileri*. IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi -Bursa S: 217.
7. **Catala- Gregori P, Mallet S, Travel A, Lessire M** (2007): *Efficiency of a prebiotic and a plant extract on broiler performance and intestinal physiology*. Proceedings of 16 th European Symposium on Poultry Nutrition S: 29.
8. **Çiftçi M** (2005): *The effect of anise oil on broiler performance*. 14 th World Veterinary Poultry Congress S: 459.
9. **Çördük M, Ceylan N, Toprak NN, Tel Y** (2007): *Etlik piliç yemlerine organik asit, prebiyotik bitkisel ekstrakt ve probiyotik ilavesinin performans ve bağırsak mikroflorası üzerine etkisi*. IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi -Bursa S: 325.
10. **Didry N, Dubreuil L, Pinkas M** (1994): *Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria*. Pharm Acta Helv, **69**, 25-28.

- 11. Engberg R, Jensen, B, Hojberg O** (2007): *Plant of Juglandaceae family as alternative to antibiotic growth promoters in broiler production*. Proceedings of 16 th European Symposium On Poultry Nutrition S: 184.
- 12. Ertaş ON** (2005): *The effect of an essential oil mix derived from oregano clove and anise broiler performance*. 14 th World Veterinary Poultry Congress S: 461.
- 13. Farahat MH, Abdallah FM, Ali HA, Hernandez-Santana A** (2016): *Effect of dietary supplementation of grape seed extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response of broiler chickens*. **2**, 1-7.
- 14. Giannenas I, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA, Spais AB** (2003): *Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with eimeria tenella*. Arch Anim Nutr, **57** (2): 99-106.
- 15. Halle I, Schubert R, Flachowsky G, Jahreis G, Bitsch R** (2001): *Effect s of essential oils and herbal mixtures on the growth of broiler chicks*. Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier.-8.-Symposium, 26 und 27.-September, 2001, Jena Thuringen Germany, 439-442.
- 16. Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias Md** (2004): *Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size*. Poult Sci, **83**, 169 - 174.
- 17. Infante-Rodríguez F, Salinas-Chavira J, Montaña-Gómez MF, Manríquez-Nuñez OM, González-Vizcarra VM, Guevara-Florentino OF, Ramírez De León JA** (2016): *Effect of diets with different energy concentrations on growth performance, carcass characteristics and meat chemical composition of broiler chickens in dry tropics*. Springerplus, **5**(1):1937.
- 18. Jamroz, D, Kamel C** (2002): *Plant extracts enhance broiler performance*. In non ruminant nutrition: Antimicrobial agents and plant extracts on immunity, healt and performance. J Anim Sci, 80 (E.suppl 1), 41.
- 19. Jang IS, Ko YH, Yang HY, Ha JS, Kim JY, Kang SY, Yoo DH, Nam Ds, Kim DH, Lee CY** (2004): *Influence of essentila oil components on growth performans and the functional activity of the pancreas and small intestine in broiler chickens*. Asian Australasian Journal of Animal-Sciences, Sciences.**17** (3): 394-400.
- 20. Kamel C, Jamroz D** (2003): *Plant extracts enhance broiler performance*. J. Anim Sci. Vol 80. Suppl 1.

- 21. Kitandu A, Juranova R** (2006): *Progress in control measures for chicken coccidiosis*. Actavet Brno, S: 265-276.
- 22. Lee K-W, Everts H, Kappert HJ, Frehner M, Losa R, Beynen AC** (2003a): *Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female chickens*. Br Poult Sci, **44** (3): 450-457.
- 23. Lee KW, Everts H, Kappert HJ, Yeom K-H, Beynen AC** (2003b): *Dietary carvacrol lowers body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens*. Poultry Science Association, 394-399.
- 24. Lee K-W, Everts H, Beynen AC** (2004a): *Essential oils in broiler nutrition*. Int J Poult Sci, **3** (12): 738-752.
- 25. Lee KW, Everts H, Kappert HJ, Van Der Kuilen J, Lemmens AG, Frehner M, Beynen AC** (2004b): *Growth performance, intestinal viscosity, fat digestibility and plasma cholesterol in broiler chickens fed a rye- containing diet without or with essential oil components*. Int J Poultry Sci, **3** (9): 613-618.
- 26. Leeson S, Summers JD** (2001): *Scott,s nutrition of the chicken*. Canada: University Books Guelph.
- 27. Moleyar V, Narasimham P** (1992): *Antibacterial activity of essential oil components*. Int J Food Microbiol, **16**, 337-342.
- 28. Montes-Belmont R, Carvajal M** (1998): *Control of Aspergillus flavus in maize with plant essential oils and their components*. J Food Protect, **61**, 616-619.
- 29. Saini R, Davis S, Dudley- Cash W** (2004): *Oregano essential oil reduces the expression of coccidiosis in broiler*. 22. World Poultry Congress book of abstracts. S: 583.
- 30. Shawle K, Urge M, Animut G** (2016): *Effect of different levels of Lepidium sativum L. on growth performance, carcass characteristics, hematology and serum biochemical parameters of broilers*. Springerplus, **5** (1):1441.
- 31. Sirvydis VH, Bobiniene R, Priudiokiene V, Vencius D** (2003): *Phytobiotics add value to broiler feed*. World Poultry -Elsevier, **19** (1): 16-17.
- 32. Song D, Wang YW, Hou YJ, Dong ZL, Wang WW, Li AK** (2016): *The effects of dietary supplementation of microencapsulated and the extract of seed on growth performance, immune functions, and serum biochemical parameters in broiler chickens*. J Anim Sci, **94** (8): 3271-3277.
- 33. Suk JC, Lim HS, Paik IK** (2003): *Effects of Blended Essential Oil (CRINA®) Supplementation on the Performance, Nutrient*

Digestibility, Small Intestinal Microflora and Fatty Acid Composition of Meat in Broiler Chickens. J Anim Sci Tech, **45 (5)**: 777-786.

34. Şimşek ÜG, Güler T, Çiftçi M, Ertaş ON, Dalkılıç B (2007a): *Rasyona ilave edilen antibiyotik ve kekik yağının etlik piliçlerde canlı ağırlık, karkas ve etlerin duyuşal özellikleri üzerine etkisi.* IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi-Bursa, S:233.

35. Şimşek ÜG, Güler T, Çiftçi M, Ertaş ON, Dalkılıç, B (2007b): *Esans yağ karışımının etlik piliçlerde canlı ağırlık karkas ve etlerin duyuşal özellikleri üzerine etkisi.* IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi -Bursa S: 238.

36. Vogt H, Rauch H-W (1991): *Der Einsatz einzelner ätherischer Öle im Geflügelmastfutter.* Lanbauforschung Völkenrode, **41**, 94-97. In: Lee, K.-W., Everts, H., Beynen, A.C. (2004). *Essential oils in broiler nutrition.* Int J Poul Sci, **3(12)**: 738752.

37. Wang S, Zhang L, Li J, Cong J, Gao F, Zhou G (2017): Effects of dietary marigold extract supplementation on growth performance, pigmentation, antioxidant capacity and meat quality in broiler chickens. Asian-Australas J Anim Sci, **30(1)**: 71-77

38. Waldenstedt L (2003): *Effect of vaccination against coccidiosis in combination with an antibacterial Origanum vulgare*

compound in organic broiler production. Acta Agri Scan, **9**, 101-109

39. Williams P, Losa R (2001): *The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition.* World Poult, **17(4)**: 14-15.

40. Zang KY, Yan F, Keen CA, Waldroup PW (2005): *Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens.* Int J Poul Sci, **4(9)**: 612-619.

Geliş Tarihi: 19/02/2017 Kabul Tarihi: 03/04/2017

Yazışma Adresi:

Prof. Dr. Gültekin YILDIZ

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları A.D.

Dışkapı/Ankara

e posta: gyildiz@ankara.edu.tr

Epididimal boğa spermasının dondurulmasında farklı sulandırıcıların etkisi

Eser AKAL^{*}, Murat SELÇUK^{**}, Emre DEMİRCİ^{***}

Öz: Bu çalışmanın amacı, üç farklı sulandırıcı ile sulandırılarak dondurulan epididimal boğa sperması üzerine sulandırıcı etkilerinin araştırılmasıdır. Spermalar 9 adet Holstein boğa testisinden (12-24 aylık) elde edildi ve TRIS-fruktoz-sitrik asit-gliserol (TYS) (%7 v/v) – yumurta sarısı (%20 v/v) sulandırıcısı, soya özlü bir ticari sulandırıcı olan Andromed® (Minitube, Germany) ve hayvansal protein içermeyen ticari bir sulandırıcı olan OPTIXcell® (Imv, L'Aîgle, France), ile sulandırıldı. Spermalar, 80 milyon spermatozoa/mL'lik son konsantrasyon olacak şekilde sulandırıldıktan sonra 0,25 mL'lik payetlere dolduruldu ve 4 saat boyunca ekilibrasyona tabi tutuldu. Ardından sıvı azot buharında donduruldu. Spermatolojik özellikler [motilite (%), canlı spermatozoa (%), anormal spermatozoa (%), HOST (+) spermatozoa (%)] taze, soğutulmuş ve dondurulmuş spermada değerlendirildi. Araştırmada farklı sulandırıcılarda yapılan spermatolojik muayenelerin istatistik değerlendirmesinde, motilite sonuçlarında gruplar arasında dondurulmuş spermada farklılık önemsizken, taze (P<0,001) ve soğutulmuş spermada (P<0,01) farklar önemli bulunmuştur. Canlı spermatozoa bulgularında gruplar arası farklar önemlidir (P<0,001). Anormal spermatozoa bulgularında kuyruk kısmına bağlı anomalilerde gruplar arasında taze spermada ve soğutulmuş spermada farkların önemli olduğu gözlenmiştir (P<0,05). HOST (+) sonuçlarında gruplar arası farklar önemli bulunmuştur (P<0,01). OPTIXcell® sulandırıcısı ile diğer sulandırıcılara göre daha olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bu veriler ışığında, hayvansal protein içermeyen OPTIXcell® sulandırıcısının TYS ve Andromed® sulandırıcılarına göre, epididimal

* Yrd. Doç. Dr, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

** Doç. Dr, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

*** Doktora Öğrencisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

boğa spermasının dondurulmasında daha uygun olduğu düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Boğa, epididimal sperma, sulandırıcılar.

The effect of different extenders on freezing epididymal bull spermatozoa

Abstract: The aim of present study was to compare the characteristics of frozen-thawed epididymal bull semen processed with three different cryopreservation media. Semen (n=9) were collected from 9 Holstein bull testes (aged 12-24 months) and semen processed using one-step dilution with a TRIS-fructose-citric acid-glycerol (7 % v/v)-(TFEY) egg yolk (20 % v/v) extender, Andromed® (Minitube, Germany) a soy extract diluents commercial brand and with OPTIXcell® (imv, L'Aîgle, France), a commercially available animal protein-free medium. Semen extended to a final dilution of 80 million spermatozoa/mL was packaged in 0.25 mL straws and equilibrated for 4 h, then frozen in liquid nitrogen vapour. Sperm characteristics [motility(%), viability (%), abnormal spermatozoa (%), HOST (+) spermatozoa (%)] were assessed on fresh, extended and cryopreserved semen. In the statistical evaluation of spermatological examinations performed in different diluents, differences in frozen sperm were not significant among the groups in the motility

results, but differences in fresh (P <0.001) and chilled sperm (P <0.01) were significant. Viability results were found to be important for each group (P <0.001). Differences in fresh sperm and chilled sperm were found to be significant (P <0.05) among the groups in the anomalies connected to the tail part in the abnormal spermatozoa results. The differences between the groups in the HOST (+) results were found to be significant for each group (P <0.01). With OPTIXcell® extender, more favourable results were obtained compared to other extenders. In conclusion, the animal proteinfree medium OPTIXcell® is well suited for cryopreservation of epididymal bull sperm according to TFEY and Andromed®.

Keywords: Bull, epididymal sperm, extenders.

Giriş

Evcil hayvanlarda epididimal spermanın dondurulması için etkili yöntemlerin geliştirilmesine artan ilgi, büyük oranda yüksek verim özelliklerine sahip bireylerdeki genetik materyalin korunması ve hastalık - ani ölüm sebebiyle nesli tükenmekle tehdit altında olan ırkların varlığından kaynaklanmaktadır (2, 7). Epididimal spermanın dondurulması, süresiz depolama özelliğinden dolayı genetik materyalin verimli ve ekonomik bir şekilde kullanımını sağlamaktadır (19).

Boğa epididimal spermasının in vivo dölveriminin ejaküle spermaya kıyasla daha düşük olduğu bilinmektedir. Ejaküle sperma, plazma membranına bağlanan protein türleri içermesi ve onların hareket özellikleri de dâhil olmak üzere birçok faktörden kaynaklı olarak epididimal spermadan farklıdır (10, 17). Bunun yanı sıra epididimal spermatozoonlar, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi çeşitli antioksidan enzimler tarafından fizyolojik olarak korunmaktadır (35). Yapılan bir araştırmada elde edilen sonuçlar hem ejaküle spermatozoonun hem de dondurulup çözdürülmüş epididimal spermatozoonun, sığır embriyolarının in vitro üretiminde kullanılması için eşit derecede uygun olduğunu göstermektedir (1).

Sperma dondurma ve çözdürme işlemi termal ve ozmotik şokaya olarak spermatozoon motilitesiyle birlikte enerji üretimini azaltır. Bununla beraber hücre zarı geçirgenliğinde bir artış olur (11). Spermatozoon membranının seçici geçirgenliğindeki bir değişiklik, spermatozoon motilitesini ve enerji üretimini azaltır, membran lipid kompozisyonunu değiştirir (13).

Boğa spermasının dondurulmasında yumurta sarısı içeren sulandırıcılar dünya çapında başarıyla kullanılmaktadır (14). Yumurta sarısı, soğutma ve dondurma

sırasında spermatozoayı koruyabilen fosfolipidleri, esasen fosfatidilkolini içeren bir düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) fraksiyonu içerir ve bu sayede koruma sağlar (3). Spermadaki bakteri miktarının artmasının spermatozoa üzerine zararlı etkileri bulunmaktadır. Yumurta sarısı ve süt gibi hayvansal ürünler mikrobiyel kontaminasyon riskini artırmaktadır. Bu sebeple endotoksin oluşumuyla spermatozoonun fertilité kapasitesi olumsuz yönde etkilenmektedir (4). Bu durumun önüne geçmek amacıyla araştırmacılar, sulandırıcılara hayvansal orijine dayanmayan apatojen ürünler veya SPF (specific pathogen free) yumurta sarısının katılmasının daha güvenli olduğunu savunmaktadırlar (4, 33).

Birçok hazır sulandırıcı veya formüle edilmiş kimyasal kompozisyonlar boğa spermasının dondurulması amacıyla kullanılabilir (34). Bununla birlikte, bir türün spermasının dondurulması için optimize edilmiş bir sperma dondurma protokolü, diğer bir tür için ideal olmayabilir. Farklı türlerden elde edilen spermatozoonlar, dondurmayı etkileyen büyüklük, şekil ve lipid kompozisyonu çeşitliliği gösterir. Epididimisten elde edilen boğa spermasının dondurulmasında spesifik bir sulandırıcı veya protokol yoktur (25). Bu nedenle bu çalışma, epididimal boğa sperması dondurulmasında, formüle edilmiş Tris-

sitrik asit-fruktoz sulandırıcısı ile iki ticari sulandırıcının (Andromed® ve OPTIXcell®) bazı spermatolojik parametreler üzerine etkisini araştırmak amacı ile tasarlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Özel bir mezbahadan kesim sonrası alınan 9 adet (12-24 aylık) Holstein boğa testisi (tek taraflı) çalışmanın materyal bölümünü oluşturdu. Hayvanlarda kesim öncesinde genel muayene açısından bir sorun gözlenmedi.

Testislerin alınması ve laboratuvara getirilmesi: Mezbahada kesilen boğaların testisleri kesimin hemen sonrasında scrotumunun bir bıçak yardımıyla kesilip açılması ile dışarı çıkarıldıktan sonra spermatik kord'dan kesilerek epididimislerle birlikte alındı. Alınan testisler, içerisinde +4°C'yi sağlayacak buz kalıpları bulunan kapalı bir kaba konularak kesimden sonraki 30 dakika içinde laboratuvara ulaştırıldı ve bunu takiben en geç 4 saat içinde spermanın elde edilmesi ve işlenmesi tamamlandı (15).

Spermanın elde edilmesi ve işlenmesi: Laboratuvara getirilen testislerden epididimisler ayrıldı, steril bir bisturi yardımıyla cauda epididimis üzerine kesit atılarak, spermanın dışarı çıkması sağlandı. Daha sonra dışarı sızan sperma steril bir enjektör yardımıyla çekilerek toplandı (24). Her testisten elde edilen sperma her bir

sulandırıcı için ayrı ayrı eklenmek üzere üçe ayrıldı. Grup I; TYS sulandırıcısı (1) (Tris: 3,605 g, Sitrik Asit: 2,024 g, Fruktoz: 1,488 g, Yumurta Sarısı: 20 ml, Gliserol: 7 ml, Penicillin: 1000 IU/ml, Streptomycin: 1000 microgram/ml, Distile su: 100 ml'ye tamamlanır. pH: 7,00), Grup II; Andromed® (pH: 7,00) ve Grup III OPTIXcell® (pH: 6,91) ile sulandırıldı. Her grup spermatolojik muayeneler yönünden *taze* (ilk elde edilen), *soğutulmuş* (dondurma öncesi +5°C'de 4 saat ekilibrasyona tabi tutulan) ve *dondurulmuş* (sıvı azot buharında dondurulup çözdürülen) olarak incelendi.

Sulandırılan epididimal spermalar son konsantrasyonları 80×10^6 sp/ml olacak şekilde ayarlandıktan sonra manuel olarak 0,25 ml'lik payetlere çekildi. Ardından payetler içerisindeki spermalar +5°C'de 4 saat ekilibrasyona tabii tutuldu ve 6 cm sıvı azot buharında (-80°C ila -120°C'de) 20dk. bekletilerek donduruldu (22). Dondurulan spermalar en az 24 saat sıvı azotta (-196°C) saklandıktan sonra 37°C'deki kuru sistem sperma çözdürme cihazında 25-30 saniye bekletilerek çözdürüldü (28) ve ardından spermatolojik parametreler yönünden tekrar incelendi.

Spermatolojik muayeneler: Spermatolojik muayenelerden spermatozoa progresif

motilitesi (%), spermatozoa yoğunluğu ($\times 10^6$ sp/ml), ölü/canlı spermatozoa oranı (%), anormal spermatozoa oranı (%) ve HOST (+) oranı saptandı.

Progresif motilite muayenesi: Muayene ısıtma tablalı, faz-kontrast mikroskop kullanılarak yapıldı ve yüzde olarak belirlendi. Spermadan küçük bir damla alınarak ısıtma tablalı ve sıcaklığı 37°C 'ye ayarlanmış mikroskoba konulan lam üzerine konuldu, lamel ile kapatılıp 40X büyütmede spermatozoonların hareketlerinin incelenmesi yapıldı. Böylece bir yönde güçlü hareket eden spermatozoonların hareketsiz veya diğer hareket biçimi gösterenlere oranı en az birbirinden farklı üç mikroskop alanında sayılması ile ortalaması alınarak yüzde olarak saptandı (29).

Spermatozoa yoğunluğu: Elde edilen epididimal spermadaki birim hacim spermada bulunan spermatozoa sayısı hemositometrik yöntem ile saptandı. Sperma, 1/500 oranında Hayem solüsyonuyla sulandırıldı ve Thoma lamlarda sayılarak, özel formülünde bulunan rakamlar yerine konularak spermatozoa yoğunluğu belirlendi (32).

Ölü/canlı spermatozoa oranı (%): Boyama yöntemiyle (% 2'lik Eosin) ölü/canlı spermatozoa oranları yüzde olarak

belirlendi. Bu işlem 37°C 'de, % 2'lik Eosin boya ile yapıldı. Bir damla sperma, iki damla Eosin ile karıştırılıp bir lam üzerine froti çekildi. 15 saniye boyunca kurumaya bırakılan slaytlar mikroskopta 40X büyütme ile 400 spermatozoon sayılarak, boya alan (ölü hücrelerin) spermatozoonların sayısı yüzde olarak belirlendi (32).

Anormal spermatozoa oranı (%): Anormal spermatozoa oranının belirlenmesinde sıvı fikzasyon yöntemi kullanıldı. Baş-akrozom, orta kısım, kuyruk anomalileri ve toplam spermatozoa anomalileri oranı yüzde olarak belirlendi. Spermatozoa, Hancock solüsyonu içerisinde fikse edildi ve hazırlanan bu solüsyondan bir damla lam üzerine konulup lamel kapatıldı. Kapatılan lamel üzerine bir damla immersiyon yağı damlatılarak 100X büyütmede 400 spermatozoon sayılarak morfolojileri yüzde olarak tespit edildi (32).

Hipo-ozmotik şişme testi (HOST) oranı (%): Spermatozoon membranının fonksiyonel bütünlüğünü belirlemek için 100 mosm/lt'lik bir solüsyon (9 g fruktoz + 4,9 g sodyum sitrat, 1 lt distile su içerisinde çözüldü) kullanıldı. 30 µl sperma örneği 300 µl 100 mOsm hipo-ozmotik solüsyonu içerisinde 37°C 'de 60 dakika boyunca inkübasyona bırakıldıktan

sonra, bu karışımdan 0,2 ml örnek ısıtma tablalı mikroskopta 100X büyütmede 200 spermatozoon değerlendirildi. Şişmiş veya kıvrılmış kuyruklar kaydedildi (27).

İstatistik analiz: Spermatolojik özelliklerden anormal sperma oranları, interaksiyon etkilerinin araştırılması amacıyla iki yönlü (two-way) varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Motilite, ölü-canlı spermatozoa oranı ve hipozmotik şişme oranı yine benzer yaklaşımla analiz edilerek değerlendirilmiştir. Tüm veriler ortalama ve standart sapma şeklinde özetlenerek sunulmuştur. İstatistik analizler ve tanıtıcı istatistiklerde SAS (ver. 3.01 - 2009) istatistik paket programı kullanıldı (5).

Bulgular

Araştırma süresince boğalardan elde edilen taze, soğutulmuş ve dondurulmuş epididimal spermadaki spermatozoa motilitesi (Tablo 1), canlı spermatozoa (Tablo 2), anormal spermatozoa oranları (Tablo 3) ve HOST (+)'e (Tablo 4) ait ortalama değerler ve bu değerlere ilişkin analizler ilgili tablolarda verilmiştir.

Araştırmada farklı sulandırıcılarda yapılan spermatolojik muayenelerin istatistik değerlendirmesinde, motilite sonuçlarında gruplar arasında dondurulmuş spermada farklılık önemsizken, taze spermada ($P<0,001$) ve soğutulmuş spermada ($P<0,01$)

farklar önemli bulunmuştur. Yine motilite sonuçlarında uygulamalar arasında her grup için farklar önemlidir ($P<0,05$). Canlı spermatozoa bulgularında gruplar arası ve uygulamalar arası farklar her grup ve uygulama için önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,001$). Anormal spermatozoa bulgularında baş-akrozom ve orta kısma ait farklılık önemsizken, kuyruk kısmına bağlı anomalilerde gruplar arasında taze spermada ve soğutulmuş spermada farkların önemli olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). Ayrıca uygulamalar arası farklılık her uygulamada önemli bulunmuştur ($P<0,001$). HOST (+) sonuçlarında gruplar arası farklar ($P<0,01$) ve uygulamalar arası farklar ($P<0,001$) önemli bulunmuştur.

Tablo 1: Motilite Bulguları (%).**Table 1:** Motility results (%).

	Taze sperma	Soğutulmuş sperma	Dondurulmuş sperma	P
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
Grup I	47,77 ± 4,00 ^{aB}	36,66 ± 3,72 ^{bB}	28,88 ± 3,51 ^b	*
Grup II	57,77 ± 3,91 ^{aAB}	43,88 ± 4,39 ^{bAB}	30,55 ± 3,05 ^c	*
Grup III	67,77 ± 3,64 ^{aA}	51,66 ± 4,78 ^{bA}	37,77 ± 3,34 ^c	*
P	***	**	Ö.S.	

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, Ö.S. Önemsiz ($P > 0,05$)

A, B, C: Gruplar arasında aynı sütunda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

a, b, c: Uygulamalar arasında aynı satırda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

Ö.S.: Non-significant ($P > 0,05$)

A, B, C: The averages expressed in different letters in the same column between the groups are significantly different.

a, b, c: The averages expressed in different letters on the same line between treatments are significantly different.

Tablo 2: Canlı spermatozoa bulguları (%).**Table 2:** Live spermatozoa results (%).

	Taze sperma	Soğutulmuş sperma	Dondurulmuş sperma	P
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
Grup I	63,22 ± 1,60 ^{aC}	50,22 ± 1,66 ^{bC}	40,22 ± 1,63 ^{cB}	***
Grup II	73,88 ± 1,46 ^{aB}	61,00 ± 1,62 ^{bB}	43,44 ± 1,65 ^{cB}	***
Grup III	85,77 ± 1,52 ^{aA}	70,33 ± 1,52 ^{bA}	52,88 ± 1,66 ^{cA}	***
P	***	***	***	

*** $P < 0,001$

A, B, C: Gruplar arasında aynı sütunda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

a, b, c: Uygulamalar arasında aynı satırda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

A, B, C: The averages expressed in different letters in the same column between the groups are significantly different.

a, b, c: The averages expressed in different letters on the same line between treatments are significantly different.

Tablo 3: Anormal spermatozoa bulguları (%).**Table 3:** Abnormal spermatozoa results (%).

		Grup I	Grup II	Grup III	P
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
Baş akrozom	Taze sperma	2,88 ± 0,56	2,66 ± 0,70	3,44 ± 0,44	Ö.S.
	Soğutulmuş sperma	3,00 ± 0,66	2,33 ± 0,64	3,44 ± 0,94	Ö.S.
	Dondurulmuş sperma	3,44 ± 0,64	3,33 ± 0,47	3,66 ± 0,55	Ö.S.
P	Ö.S.	Ö.S.	Ö.S.		
Orta kısım	Taze sperma	4,66 ± 1,11	3,66 ± 0,95	5,33 ± 0,70	Ö.S.
	Soğutulmuş sperma	4,00 ± 0,60	5,33 ± 1,54	5,55 ± 0,66	Ö.S.
	Dondurulmuş sperma	5,44 ± 0,95	6,66 ± 0,84	7,22 ± 0,36	Ö.S.
P	Ö.S.	Ö.S.	Ö.S.		
Kuyruk	Taze sperma	11,11 ± 1,79 ^{bAB}	18,22 ± 2,89 ^{aA}	17,55 ± 1,74 ^a	**
	Soğutulmuş sperma	10,00 ± 0,91 ^{bb}	13,11 ± 2,15 ^{abB}	15,88 ± 1,90 ^a	**
	Dondurulmuş sperma	13,33 ± 0,98 ^{bA}	14,22 ± 1,05 ^{bb}	19,22 ± 0,86 ^a	**
P	*	*	Ö.S.		

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, Ö.S. Önemsiz ($P > 0,05$)

A, B, C: Gruplar arasında aynı sütunda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

a, b, c: Uygulamalar arasında aynı satırda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

Ö.S. : Non-significant ($P > 0,05$)

A, B, C: The averages expressed in different letters in the same column between the groups are significantly different.

a, b, c: The averages expressed in different letters on the same line between treatments are significantly different.

Tablo 4: HOST (+) sonuçları (%).**Table 4:** Results of the HOST (+) (%).

	Taze sperma	Soğutulmuş sperma	Dondurulmuş sperma	P
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
Grup I	29,22 ± 1,51 ^{aB}	23,00 ± 1,40 ^{bb}	16,33 ± 1,23 ^{cC}	***
Grup II	34,55 ± 1,58 ^{aAB}	27,11 ± 1,48 ^{bb}	18,66 ± 1,29 ^{cB}	***
Grup III	39,33 ± 1,62 ^{aA}	29,33 ± 1,51 ^{bA}	22,11 ± 1,38 ^{cA}	***
P	**	**	**	

** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

A, B, C: Gruplar arasında aynı sütunda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

a, b, c: Uygulamalar arasında aynı satırda farklı harfle ifade edilen ortalamalar önemli derecede farklıdır.

A, B, C: The averages expressed in different letters in the same column between the groups are significantly different.

a, b, c: The averages expressed in different letters on the same line between treatments are significantly different.

Tartışma ve Sonuç

Sperma dondurulması amacıyla kullanılan ticari sulandırıcıların maliyetleri yüksek olarak algılansa da spermanın sulandırma işlemi sırasında sağladıkları kolaylıklar göz önüne alındığında avantajları açıkça ortaya çıkmaktadır. Sulandırıcının laboratuvar ortamında hazırlanma işleminde, kimyasalların tartılması ve ayarlanması gibi zorluklarının yanı sıra kontaminasyon riski oldukça fazladır. Ayrıca kimyasal maddelerin uygun şartlarda muhafaza edilme zorunlulukları yanında belli bir kullanım sürelerinin olması da bir başka olumsuzluktur.

Sperma dondurulmasındaki sonuçlar; çalışmada kullanılan sulandırıcılara, hayvan materyalinin farklı ırk ve yaşta olmasına, bakım besleme koşullarının farklılığına, sulandırıcılara katılan kryoprotektanların oranı ve farklılığına, spermanın dondurma şekli ve metoduna göre değişiklikler gösterebilmektedir (34).

Boğa spermasının dondurulması amacıyla, birden fazla kombinasyonu ile TYS sulandırıcısı (1, 16, 18) ve farklı ticari sulandırıcılar (8, 20, 22) günümüze kadar denenmiştir. Bu ticari sulandırıcılar içeriklerine göre (bitkisel içerikli, protein ve yumurta sarısı içermeyen gibi) farklılıklar göstermektedir.

Lopes ve ark. (18) epididimal boğa spermasını dondurdukları araştırmalarında TYS ve Andromed® ile taze spermada sırasıyla % 64,4 ± 7,3 ve % 40,6 ± 8,1 motilite değerleri elde ederken, bu değerler dondurma sonrası sırasıyla % 40,6 ± 8,5 ve % 20,0 ± 9,4 olarak bulmuştur. Yine boğa epididimal spermasının denendiği bir çalışmada Fleisch ve ark., (9) başlangıçta % 85,1 ± 7,6 buldukları motilite oranını Andromed® ve OPTIXcell® ile sulandırarak dondurma öncesi sırasıyla % 73,4 ± 15,2 ve % 77,9 ± 10,3 olarak, dondurma sonrası sırasıyla % 42,1 ± 15,6 ve % 55,9 ± 12,7 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmamızda bulduğumuz değerler Lopes ve ark., (18)'nin buldukları değerler ile yakınlık gösterirken, Fleisch ve ark., (9)'nin buldukları değerlerden daha düşük olduğu görülmüştür. Bu fark, kullanılan ön sulandırıcı ve dondurma metodunun farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Memeli sperması suyun donma noktasına yakın bir sıcaklığa doğru uygulanan soğutulmaya karşı çok hassastır. Soğuk şoku olarak bilinen bu durum spermatozoada çözündürme sonrası geri dönüşümsüz bir motilite kaybına neden olmaktadır. Soğuk şoku, metabolik fonksiyonlardaki değişiklikler, hücresel membrandaki hasarı ve

membran bileşenlerinin düzenlenmesindeki değişikliklerden kaynaklanmaktadır (23).

Chaudhari ve ark.,(6) manda spermasında % 90,48 ± 0,19 oranında elde ettikleri canlı spermatozoa oranını, TYS ve OPTIXcell® ile sulandırarak dondurma öncesi sırasıyla % 79,21 ± 0,39 ve % 81,58 ± 0,38 bulurken bu değerler dondurma sonrası sırasıyla % 57,19 ± 0,79 ve % 59,67 ± 0,91 olarak kaydedilmiştir. Lopes ve ark., (18) ise Andromed® sulandırıcısını denedikleri epididimal boğa spermasında dondurma öncesi % 77,6 ± 7,5 olarak buldukları canlı spermatozoa oranını dondurma sonrası % 21,0 ± 10,40 olarak bulmuşlardır. Araştırmamızda elde ettiğimiz canlı spermatozoa değerleri, Lopes ve ark., (18)'nin buldukları değerler ile kısmi yakınlık ve yükseklik gösterirken, Chaudhari ve ark., (6)'nın buldukları değerlerden daha düşük olduğu görülmüştür. Bu farklılıklar, hayvan türü, kullanılan ön sulandırıcı ve dondurma metodunun farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Anormal spermatozoanın değerlendirildiği araştırmalarda Tuncer ve ark., (34) ejaküle boğa spermasında akrozom, baş, orta ve kuyruğa bağlı anomalileri için sırasıyla % 0,12 ± 0,05, % 1,05 ± 0,03 , % 0,85 ± 0,13 ve % 0,85 ± 0,13 olarak buldukları değerler Andromed® sulandırıcı ile sulandırıldıktan

sonra dondurma öncesi sırasıyla % 0,27 ± 0,07, % 1,67 ± 0,1, % 1,25 ± 0,11 ve % 2,57 ± 0,17, dondurma sonrası sırasıyla % 0,55 ± 0,09, % 2,53 ± 0,15, % 1,48 ± 0,14 ve % 3,70 ± 0,21 olarak bulunmuştur. Chaudhari ve ark. (6) manda spermasında başlangıçta baş kısma, orta kısma ve kuyruğa bağlı anomalileri sırasıyla % 1,83 ± 0,05, % 0,88 ± 0,03, % 3,44 ± 0,05 buldukları araştırmalarında, TYS ve OPTIXcell® ile sulandırarak dondurma öncesinde TYS ile bu parametreler için sırasıyla % 2,27 ± 0,08, % 1,23 ± 0,06, % 4,40 ± 0,07 değerleri, OPTIXcell® ile % 1,79 ± 0,08, % 1,08 ± 0,08, % 4,21 ± 0,11 değerleri, dondurma sonrasında ise TYS ile % 3,42 ± 0,09, % 2,08 ± 0,07, % 6,83 ± 0,10 OPTIXcell® ile % 3,02 ± 0,11, % 1,79 ± 0,07, % 6,46 ± 0,12 elde etmişlerdir. Bu değerlere ait verileri ile araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar kısmi benzerlikler ve farklılıklar göstermiştir. Bu durumun epididimal sperma yerine ejaküle sperma tercih edilmesi ve hayvan türü farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Taşdemir ve ark., (31) boğa spermasında TYS sulandırıcısı ile çözüm sonu % 41,10 ± 0,40 oranında HOST (+) sonuç elde ederken, Andromed® sulandırıcı ile Rashedi ve ark.,(26) yine boğa spermasında yapılan bir araştırmalarında % 44,01 sonuç elde etmiştir.

Swami ve ark., (30) ise manda spermasında OPTIXcell® sulandırıcı ile % 32,15 ± 11,89 oranında HOST (+) sonuç elde etmişlerdir. Araştırmamızda bu sonuçlara kıyasla düşük sonuçlar elde edilmiştir. Bu farkın nedeni epididimal sperma yerine ejaküle sperma tercih edilmesi ve hayvan türü farklılığından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Günümüze kadar kullanılan sulandırıcılarda yumurta sarısı yoğun olarak kullanılmakta ve içerdiği hormonlar ve kontaminasyon riskleri içermesi fertilite kapasitesini etkileyebilmektedir(12,21). Sonuç olarak ticari olarak satılan Andromed® ve OPTIXcell® sperma sulandırıcıları maliyetleri ile dikkati çekse bile, çeşitli kimyasallar ile laboratuvar ortamında hazırlanan diğer sulandırıcılara göre spermanın sulandırma ve dondurma işlemleri sırasında sağladıkları kolaylıklar ve özellikle hijyenik olmalarından dolayı tercih edilebilir durumdadırlar. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar dâhilinde dondurma-çözdürme sonrası OPTIXcell® sulandırıcısında spermatolojik parametre sonuçlarının istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlendiğinden, Andromed® ve TYS sulandırıcılarına göre öncelikle tercih edilebileceği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. **Almeida F, Silva S, Souza H, Gomes W, Lima Filho J, Wicke A, Batista A, Guerra M** (2016): *Effects of glycerol, equilibration time and antioxidants on post-thaw functional integrity of bovine spermatozoa directly obtained from epididymis*. *Andrologia*: 1-9.
2. **Andrabi S, Maxwell W** (2007): *A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species*. *Animal Reproduction Science*, **99**(3): 223-243.
3. **Bergeron A, Manjunath P** (2006): *New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk*. *Molecular reproduction and development*, **73**(10): 1338-1344.
4. **Bousseau S, Brillard J, Marquant-Le Guienne B, Guerin B, Camus A, Lechat M** (1998): *Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and the in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin based diluents*. *Theriogenology*, **50**(5): 699-706.
5. **Breslow NE, Clayton DG** (1993): *Approximate inference in generalized linear mixed models*. *Journal of the American statistical Association*, **88**(421): 9-25.

- 6. Chaudhari D, Dhami A, Hadiya K, Patel J** (2015): *Relative efficacy of egg yolk and soya milk-based extenders for cryopreservation (-196 C) of buffalo semen.* Veterinary world, **8**(2): 239.
- 7. Comizzoli P, Mermillod P, Mauget R** (2000): *Reproductive biotechnologies for endangered mammalian species.* Reproduction Nutrition Development, **40**(5): 493-504.
- 8. Fleisch A, Bollwein H, Witschi U, Siuda M, Janett F** (2015): *Effects of an extended equilibration period and different cryopreservation media on quality of bovine sperm.* Reproduction in Domestic Animals, **50**: 28.
- 9. Fleisch A, Malama E, Witschi U, Leiding C, Siuda M, Janett F, Bollwein H** (2017): *Effects of an extension of the equilibration period up to 96 hours on the characteristics of cryopreserved bull semen.* Theriogenology, **89**: 255-262.
- 10. Goovaerts I, Hoflack G, Van Soom A, Dewulf J, Nichi M, de Kruif A, Bols P** (2006): *Evaluation of epididymal semen quality using the Hamilton-Thorne analyser indicates variation between the two caudae epididymides of the same bull.* Theriogenology, **66**(2): 323-330.
- 11. Hammerstedt R, Graham JK, Nolan JP** (1990): *Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive.* J Androl, **11**(1): 73-88.
- 12. Hartmann S, Lacorn M, Steinhart H** (1998): *Natural occurrence of steroid hormones in food.* Food chemistry, **62**(1): 7-20.
- 13. He L, Bailey J, Buhr M** (2001): *Incorporating Lipids into Boar Sperm Decreases Chilling Sensitivity but Not Capacitation Potential 1.* Biology of reproduction, **64**(1): 69-79.
- 14. Holt W** (2000): *Basic aspects of frozen storage of semen.* Animal reproduction science, **62**(1): 3-22.
- 15. Lambrechts H, Van Niekerk F, Coetzer W, Cloete S, Van der Horst G** (1999): *The effect of cryopreservation on the survivability, viability and motility of epididymal African buffalo (Syncerus caffer) spermatozoa.* Theriogenology, **52**(7): 1241-1249.
- 16. Layek S, Mohanty T, Kumaresan A, Parks J** (2016): *Cryopreservation of bull semen: Evolution from egg yolk based to soybean based extenders.* Animal Reproduction Science, **172**, 1-9.
- 17. Lee CN, Handrow RR, Lenz RW, Ax RL** (1985): *Interactions of seminal plasma and glycosaminoglycans on acrosome reactions in bovine spermatozoa in vitro.* Gamete research, **12**(4): 345-355.

- 18. Lopes G, Soares L, Ferreira P, Rocha A** (2015): *Tris-egg yolk-glycerol (TEY) extender developed for freezing dog semen is a good option to cryopreserve bovine epididymal sperm cells*. *Reproduction in Domestic Animals*, **50**(1): 97-103.
- 19. Martins C, Rumpf R, Pereira D, Dode M** (2007): *Cryopreservation of epididymal bovine spermatozoa from dead animals and its uses in vitro embryo production*. *Animal reproduction science*, **101**(3): 326-331.
- 20. Miguel-Jiménez S, Mogas T, Peña A, Tamargo C, Hidalgo C, Muiño R, Rodríguez-Gil J, Morató R** (2016): *Post-thaw changes in sperm membrane and ROS following cryopreservation of dairy bull semen using four different commercial extenders*. *Animal Reproduction*, **13**(3): 573-573.
- 21. Muller-Schlosser F, Aires V, Hinsch E, Hinsch K** (2001): *Evaluation of the quality of a new generation of egg yolk free semen diluters for cryopreservation of bovine semen*. 34 th Conference on physiology and pathology of reproduction, Giessen.
- 22. Papa PM, Papa FO, Oliveira LA, Guasti PN, Castilho C, Giometti IC** (2015): *Different extenders in the cryopreservation of bovine epididymal spermatozoa*. *Animal reproduction science*, **161**: 58-63.
- 23. Parks JE** (1997): *Hypothermia and mammalian gametes*. In: Karow AM, Critser JK, editors. *Reproductive Tissue Banking: Scientific Principles*. San Diego: Academic Press: 229-262.
- 24. Patrizio P, Silber S, Ord T, Balmaceda J, Asch R** (1988): *Two births after microsurgical sperm aspiration in congenital absence of vas deferens*. *The Lancet*, **332**(8624): 1364.
- 25. Purdy P** (2006): *A review on goat sperm cryopreservation*. *Small Ruminant Research*, **63**(3): 215-225.
- 26. Rashedi M, Fazeli MH, Bahreini M** (2016): *Polymyxin B changes the plasma membrane integrity of cryopreserved bull semen*. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, **5**(5): 411-415.
- 27. Sarıözkan S, Bucak MN, Tuncer PB, Büyükleblebici S, Eken A, Akay C** (2015): *Influence of fetuin and hyaluronan on the post-thaw quality and fertilizing ability of Holstein bull semen*. *Cryobiology*, **71**(1): 119-124.
- 28. Selçuk M, Akal E, Çelebi M** (2014): *In Vitro Evaluation of Frozen Bull Sperm Thawed in The Different Systems*. *Kocatepe Veterinary Journal*, **7**(1): 33-37.
- 29. Sharma M, Singh M, Kapoor S, Jasial S** (2012): *Inter relationship between some routine semen evaluation parameters in*

Jersey X local hill cattle crossbred bulls. Open veterinary journal, **2**(1): 26-31.

30. Swami DS, Kumar P, Malik R, Saini M, Kumar D, Jan M (2016): *Cysteamine supplementation revealed detrimental effect on cryosurvival of buffalo sperm based on computer-assisted semen analysis and oxidative parameters*. Animal Reproduction Science, **177**, 56-64.

31. Taşdemir U, Tuncer PB, Büyükleblebici S (2014): *Effects of various antioxidants on cryopreserved bull sperm quality*. Bull Sperm Quality, **1**, 2.

32. Tekin N (1994): *Spermanın muayenesi ve değerlendirilmesi*. Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite. Dizgievi, Konya.

33. Thibier M, Guerin B (2000): *Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination*. Animal Reproduction Science, **62**(1): 233-251.

34. Tuncer PB, Çevik M, Demiral ÖO, Kinet H (2005): *Boğa spermalarının iki farklı sulandırıcı ile dondurulması ve in vitro değerlendirilmesi*. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, **2**(2): 65-71.

35. Vernet P, Aitken R, Drevet J (2004): *Antioxidant strategies in the epididymis*. Molecular and cellular endocrinology, **216**(1): 31-39.

Geliş Tarihi: 6/3/2017 Kabul Tarihi: 7/4/2017

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Eser AKAL

Ondokuz Mayıs Üniversitesi,

Veteriner Fakültesi,

Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı,

55139, Atakum, Samsun

e-posta: eserakal@omu.edu.tr

Etlik piliç rasyonlarına doğal antioksidan ilavesinin performans, et pH değeri ile karaciğer ve kanda antioksidan aktiviteye etkisi*

Erinç GÜMÜŞ**, Seher KÜÇÜKERSAN***

Öz: Bu çalışmada, etlik piliçlerin rasyonlarına doğal antioksidan ürünlerden alfa-tokoferol, üzüm çekirdeği ekstraktı ve yeşil çay ekstraktı ilavesinin; performans, kesim sonrası etin pH değeri, kanda toplam antioksidan aktivitesi (TAA), süperoksit dismutaz (SOD) seviyesi ile plazma ve karaciğerde lipid peroksidasyon sonucu oluşan yan ürün miktarları üzerine etkisi incelenmiştir. 41 günlük deneme süresince, bir günlük yaşta 128 adet erkek etlik civciv kullanılmış ve her biri 32 hayvandan oluşan 1 kontrol, 3 deneme olmak üzere toplam 4 gruba yürütülmüştür. Çalışmada, kontrol grubu rasyonuna hiçbir antioksidan madde ilave edilmezken (NK), deneme gruplarının rasyonlarına, her grubun rasyonunda 200 mg/kg toplam polifenol içerek şekilde sırasıyla 0,4 g/kg vitamin E (VitE), 0.25 g/kg üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE) ve 0,4 g/kg yeşil

çay ekstraktı (YÇE) ilave edilmiştir. Çalışma sonucunda yem tüketimi ve kesim sonrası et pH değerlerinde anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$). Antioksidan ilave edilen gruplarda; canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranlarında istatistiksel olarak olumlu fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Toplam antioksidan aktivite ve lipid peroksidasyon yan ürünlerinin temizlenmesi açısından, en etkili doğal antioksidanın VitE grubu olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Çalışma sonucunda, etlik piliçlerin rasyonlarına doğal antioksidan ilavesinin performans değerlerine olumlu etkisi olduğu; ayrıca antioksidan aktivitesi açısından en etkili doğal antioksidanın vitamin E olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Etlik piliç, doğal antioksidan, vitamin E, üzüm çekirdeği ekstraktı, yeşil çay ekstraktı

* Bu çalışma 16L0239002 kodlu A.Ü. BAP Koordinatörlüğünce desteklenmiş olan Doktora Tezinin bir bölümüdür.

** Veteriner Hekim, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, AB ve Dış İlişkiler Genel Müdürlüğü, Ankara-Türkiye

*** Prof. Dr. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye

Effect of natural antioxidant supplementation on performance, meat pH values, antioxidant activity of liver and blood in broiler diets

Abstract: In this study, the effects of dietary supplementation with natural antioxidants as alpha-tocopherol, grape seed extract and green tea extract on performance, post-slaughter meat pH values, total antioxidant activity (TAA), superoxide dismutase (SOD) level and amount of lipid peroxidation by-products (TBARS) in broilers were examined. During the 41-day experiment, 128 one-day old male chicks were used and the study was carried out with 1 control and 3 treatment groups, each of them consist 32 chicks. The control group fed with basal diet without antioxidant additives (NK) and the experimental groups diets include 0,4 g/kg vitamin E (VitE), 0,25 g/kg grape seed extract (ÜÇE) and 0,4 g/kg green tea extract (YÇE) respectively to contain 200 mg/kg total polyphenols in each diet. As a result of the experiment, there was no significant difference between the groups about feed consumption and post-slaughter meat pH values ($p>0,05$). Statistically significant differences were found in body weight, body weight gain and feed conversion rate compared to the control group ($p<0,05$). Vitamin E group was identified as the most effective natural antioxidant in terms of total antioxidant activity and scavenging of

the lipid peroxidation by-products ($p<0,05$). It is concluded that natural antioxidant supplementation in broiler diets have positive effect on growth performance, and vitamin E is the most effective natural antioxidant in terms of antioxidant activity.

Keywords: Broiler, natural antioxidant, vitamin E, grape seed extract, green tea extract

Giriş

Kanatlı eti, kaslar arasındaki yağ dokunun diğer etlere göre daha az olması ve çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin olması gibi özelliklerinden dolayı insan tüketiminde değerli bir besin maddesi olarak kabul edilmektedir (25). Ancak kas dokusunda çoklu doymamış yağ asidi oranının yüksek olması, fizyolojik ve fiziksel stres kaynaklarının dokularda yarattığı oksidatif bozulma ve lipid peroksidasyona karşı hassasiyeti arttırmaktadır (23). Oksidatif bozulma esnasında hidroksit üretimi tetiklenerek kısa zincirli aldehitler, ketonlar ve oksijenlenmiş bileşikler üretilmektedir. Oluşan bu yapılar lipitlerin, proteinlerin, karbonhidratların, pigmentlerin, vitaminlerin dolayısıyla gıdanın genel kalitesini etkileyerek tat, renk ve besin değerinin zarar görmesine neden olmakta ve sonuç olarak elde edilen ürünlerin raf ömrü kısalmaktadır (25).

Antioksidanlar genel olarak serbest radikallerin metabolizmada yarattığı zararlı etkileri önleyen ve/veya azaltan maddelerdir (11). Antioksidanlar endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimatik savunma sistemleri ile demir bağlayan proteinler, glutatyon, histidin-peptidaz, dihidrolipoik asit, melatonin, ürat ve plazma protein tiolleri gibi enzimatik olmayan savunma sistemlerini içermektedir. Eksojen antioksidanlar ise genellikle gıdalar yoluyla alınan doğal ve sentetik antioksidanları kapsamaktadır (19).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda sentetik antioksidanların toksik ve karsinojenik etkilerinin belirlenmesi nedeniyle, bunlara alternatif doğal ürünler araştırılmaya başlanmıştır (6,14,29). Doğal antioksidanların büyük çoğunluğu tokoferoller gibi yağda çözülebilen fenolik bileşiklerden veya biberiye, adaçayı, yeşil çay, üzüm çekirdeği ve kekik gibi bitkisel ürünlerde bulunan polifenollerden elde edilmektedir (29). E vitamini (alfa-tokoferol) güçlü antioksidan etkisinden dolayı, hayvan beslemede yaygın olarak kullanılan bir doğal antioksidandır (3). Bitkisel ürün kaynaklı doğal antioksidanlar arasında yeşil çay ve üzüm ön plana çıkmakta olup bu ürünlerden elde edilen yeşil çay ekstaktı ve üzüm çekirdeği ekstaktı içerdikleri

zengin polifenolik ve proantosiyonidin bileşikleri sayesinde potansiyel antioksidan özellik göstermekte ve lipid oksidasyonun önlenmesinde kullanılmaktadır (19).

Etlik piliçlerde sıcaklık stresi sonucu oluşan serbest radikallerin temizlenmesinde rasyon ile alınan E vitamininin (22) üzüm çekirdeğinin (27) ve yeşil çay ekstraktının (9) olumlu etkileri olduğu ifade edilmektedir. Benzer şekilde bu doğal antioksidanların et kalitesini arttırdığı da belirtilmektedir (6,12,13).

Bu çalışma, doğal antioksidanlar arasında ön plana çıkan ÜÇE, YÇE ve VitE'nin etlik piliçlerde performans değerleri, göğüs ve but eti pH'sı, serumdaki TAA, SOD gibi antioksidan enzim değerleri ile karaciğerde ve plazmada lipid peroksidasyon sonucu oluşan yan ürünlerin seviyesine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvan ve Yem Materyali: Çalışmada hayvan materyali olarak 128 adet günlük erkek Ross 308 etlik civciv kullanılmıştır. Civcivler biri negatif kontrol, üçü deneme grubu olmak üzere toplam dört gruba rastgele dağıtılmış ve her grup kendi içinde 8 civciv içeren dört alt gruba ayrılmıştır. Denemede 1-14 günlük dönemde etlik civciv yemi, 15-41 günlük dönemde ise etlik piliç yemi ile beslenmiştir. Araştırmada kullanılan rasyonlar özel bir yem

fabrikasında yaptırılmış ve vitamin-mineral yem katkısı ilave edilmemiştir. Rasyonların karmasında yer alan 45 mg vitamin E ve 0,3 mg selenyum haricinde hiçbir antioksidan almaktadır.

Tablo 1: Bazal rasyonun yapısı (%) ve kimyasal bileşimi

Table 1: Disposition of basal diet (%) and chemical composition

Ham Madde	Etlik Cıvciv Başlangıç	Etlik Piliç
	(1-14. Günler)	(15-41. Günler)
Mısır	46,59	51,86
Mısır gluteni	2,55	3,60
Buğday	5,00	10,00
Tam yağlı soya	0,00	4,50
Soya küspesi	37,50	23,50
MCP	0,99	0,66
Mermer tozu	1,89	1,27
Sodyum sülfat	0,30	0,08
Tuz	0,30	0,32
Bitkisel yağ	4,00	3,50
Metiyonin	0,30	0,22
Lizin	0,24	0,23
Treonin	0,12	0,07
Kolin klorid (%75)	0,07	0,05
Vitamin – mineral karması*	0,10	0,10
Enzim, (6 Fitaz)	0,05	0,05
Toplam	100,00	100,00
Bileşim		
Ham Protein,%	23,00	21,00
Ham Yağ,%	6,00	6,50
Ham Kül,%	6,00	5,00
Ham Selüloz,%	3,50	4,00
Sodyum,%	0,22	0,16
Kalsiyum,%	1,10	0,90
Fosfor,%	0,50	0,45
Toplam Lizin,%	1,44	1,24
Toplam Met + Sis,%	1,07	0,95
ME (kcal/kg)	3.100	3.200

*Her kg vitamin mineral karmasında: Vitamin A 15.000 IU, Vitamin D3 3.000 IU, Vitamin E 45 mg, Manganyum 100 mg, Demir 100 mg, Çinko 70 mg, Bakır 15 mg, İyot 1,5 mg, Kobalt 0,5 mg, Selenyum 0,3 mg

Yemlere ilave edilen üzüm çekirdeği ekstraktı ve yeşil çay ekstraktı vitamin E 200 mg/kg toplam polifenol içerecek şekilde gruplara ilave edilmiştir. Kontrol grubunun rasyonuna hiçbir antioksidan madde ilave edilmezken (NK), deneme gruplarına sırasıyla 0,4 g / kg VitE, 0,25 g / kg ÜÇE, 0,4 g / kg YÇE ilave edilmiştir.

Denemenin Yürütülmesi: Bu araştırma Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulu'nun 2015-18-201 sayılı karar no'lu iznine bağlı olarak yapılmıştır. Araştırma Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliğindeki etlik piliç deneme ünitesinde yürütülmüştür. Hayvanlar grup yemlemesine tabi tutulmuş olup yem ve temiz içme suyu ad libitum olarak verilmiştir. Deneme 41 gün sürdürülmüştür. Deneme sırasında kümes elektrikli radyanlar ile elektrikli fan ve klimalar ortam sıcaklığı dengelenmiştir. Kümes sıcaklığı ilk hafta içerisinde 32°C (± 1)'de tutulmuş, daha sonraki günlerde kademeli olarak 25°C'ye kadar düşürülmüştür.

Hayvanlar, denemenin başlangıcında ve her hafta bireysel tartılarak canlı ağırlıklar belirlenmiştir. Aynı günlerde yemliklerde kalan yem miktarı, bir önceki tartımdan sonra her tekrar grubuna verilen toplam yem miktarından çıkartılarak her tekrar grubunun bir hafta içerisinde tükettiği yem miktarı bulunmuştur. Yemden yararlanma oranı, bir kg

canlı ağırlık artışı için tüketilen yem miktarı olarak hesaplanmıştır.

Denemenin 41. gününde her alt gruptan rasgele seçilen üç hayvan kesilerek toplam 48 hayvandan göğüs ve buttan et örnekleri, ayrıca kan ve karaciğer örnekleri alınmıştır. Bütün örnekler analizlerin yapılacağı güne kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Alınan but ve göğüs etleri +4°C'de bekletilerek, ertesi gün ve üç gün arayla iki defa önceden kalibre edilmiş pH metre (Testo 205 pH Meter) ile beş farklı noktadan pH değeri ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

SOD, toplam antioksidan kapasitesi (TAOK) kan serumunda, tiyobarbitürik asit ile reaksiyonlaşan maddelerin (TBARS) seviyeleri ise karaciğer ve kan plazmasında ticari kitler (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA) kullanılarak, kitlerle birlikte gelen metotlara göre SpectraMax^{®i3} marka (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) plate okuyucu ile tayin edilmiştir.

İstatistik Analizler: Gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın önemliliği için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arasındaki farkın önemlilik kontrolü için Tukey testi uygulanmıştır (7). Çizelgelerde gruplara ait ortalama ve ortalama standart hata değerleri gösterilmiştir. İstatistik analizler SPSS 11.5 (Inc., Chiago, II, USA) programında gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Bazal rasyona VitE, ÜÇE ve YÇE ilavelerinin canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranının etkisi Tablo 2’de gösterilmiştir. Uygulamalar arasında yem tüketimi açısından anlamlı bir fark görülmemiştir ($P>0,05$). Canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranlarında 0-41. Günler arasında antioksidan ilave edilen gruplar lehine istatistik bakımdan anlamlı fark belirlenmiştir ($P<0,05$).

Bazal rasyona Vit E, ÜÇE ve YÇE ilavelerinin kesimden sonraki göğüs ve

but etlerinin pH değerleri Tablo 3’de yer almaktadır. Gruplar ve günler arasında göğüs ve but etlerinin pH değerlerinde istatistik bakımdan önemli bir fark gözlenmemiştir ($P>0,05$).

Plazma TBARS, Karaciğer TBARS, Serum TAOK ve Serum SOD değerleri Tablo 4’de yer almaktadır. Plazma TBARS, Karaciğer TBARS, Serum TAOK ve Serum SOD değerlerinde VitE gruplarında diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir ($P<0,05$; $P<0,001$).

Tablo 2: Gruplarda ortalama canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı

Table 2: Mean body weights, body weight gains, feed intakes and feed conversion rate values of the groups

	NK	VitE	ÜÇE	YÇE	SEM	P
Canlı Ağırlık, g						
0. gün	43,60	43,61	43,62	43,63	0,018	0,951
22. gün	695,61 ^b	777,61 ^a	810,33 ^a	806,85 ^a	12,741	<0,001
41. gün	2.333,90 ^b	2.522,74 ^a	2.657,27 ^a	2.529,95 ^a	34,609	0,001
Canlı Ağırlık Artışı, g						
0-21. gün	652,02 ^b	733,97 ^a	766,71 ^a	763,23 ^a	12,738	<0,001
22-41.gün	1.638,30 ^b	1.745,13 ^{ab}	1.846,94 ^a	1.723,10 ^{ab}	23,939	0,005
0-41.gün	2.290,31 ^b	2.479,09 ^a	2.613,66 ^a	2.486,33 ^a	34,607	0,001
Yem Tüketimi, g						
0-21. gün	1.483,74	1.333,20	1.361,20	1.324,64	25,182	0,073
22-41.gün	3.124,12	3.036,93	3.078,97	3.056,23	47,192	0,940
0-41.gün	4.607,87	4.370,14	4.440,17	4.380,88	56,788	0,461
Yemden Yararlanma Oranı, g/g						
0-21. gün	2,33 ^a	1,89 ^b	1,85 ^b	1,85 ^b	0,063	0,002
22-41.gün	1,88	1,74	1,68	1,76	0,036	0,239
0-41.gün	2,01 ^a	1,78 ^b	1,72 ^b	1,79 ^b	0,039	0,024

NK:Negatif Kontrol, VitE:Vitamin E, ÜÇE: Üzüm Çekirdeği Ekstraktı

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$; $p<0,01$; $p<0,001$).

Tablo 3: Gruplarda göğüs ve but etlerinin kesim sonrası günlere göre ph değerleri

Table 3: Post-slaughter pH values of breast and thigh meat of the groups by days.

		NK	VitE	ÜÇE	YÇE	SEM	P	
Göğüs Eti	1. Gün	5,88	5,83	5,84	5,81	0,012	0,246	
	4. Gün	5,89	5,87	5,88	5,82	0,016	0,354	
	7. Gün	5,79	5,78	5,81	5,79	0,016	0,895	
	SEM	0,019	0,016	0,013	0,023			
pH	P	0,053	0,066	0,060	0,916			
	But Eti	1. Gün	6,13	6,07	6,10	6,13	0,016	0,554
		4. Gün	6,09	6,09	6,09	6,11	0,017	0,968
		7. Gün	6,04	6,00	6,03	6,00	0,013	0,689
pH	SEM	0,022	0,017	0,013	0,023			
	P	0,245	0,077	0,057	0,052			

NK:Negatif Kontrol, VitE:Vitamin E, ÜÇE: Üzüm Çekirdeği Ekstraktı

Satırlar ve sütunlar arası farklılık istatistiki açıdan önemsizdir ($p>0.05$).

Tablo 4: Gruplarda kan ve karaciğer total antioksidan kapasite, süperoksit dismutaz ve tiyobarbitürik asit ile reaksiyonlaşan maddeler seviyeleri.

Table 4: Levels of total antioxidant capacity, superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substance in blood and liver of the groups.

	NK	VitE	ÜÇE	YÇE	SEM	P
Serum TAOK (mM)	2,24 ^a	1,17 ^b	1,60 ^{ab}	1,59 ^{ab}	0,131	0,025
Serum SOD (U/ ml)	6,66 ^a	4,13 ^b	4,91 ^b	6,03 ^{ab}	0,344	0,038
Plazma TBARS (μ M)	0,77 ^a	0,53 ^b	0,62 ^b	0,50 ^b	0,385	0,048
Karaciğer TBARS (μ M)	1,60 ^a	0,83 ^b	1,49 ^a	1,71 ^a	0,082	<0,001

NK:Negatif Kontrol, VitE:Vitamin E, ÜÇE: Üzüm Çekirdeği Ekstraktı

Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arası fark önemlidir $p<0.05$; $p<0.001$

Tartışma ve Sonuç

Canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranları karşılaştırıldığında rasyonlarına antioksidan ilave edilen grupların, NK grubuna göre daha iyi olduğu görülmektedir ($P<0,05$). Yapılan çalışmalarda etlik piliç rasyonlarına 200 mg/kg alfa-

tokoferol ilavesinin canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranı açısından etkili olduğu ifade edilmiştir (6, 20, 28). Çalışma sonuçlarının bulgularımızla uyumlu olduğu görülmektedir. Gruplara YÇE ve ÜÇE ilavesinin 41 gün süren deneme sonunda canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yemden

yararlanma oranı bulguları bakımından vitamin E ilave edilen gruba benzerken, NK grubuna göre istatistik bakımdan önemli ($p<0.05$; $p<0,001$) düzeyde olumlu etki gösterdiği gözlenmiştir. Etlik piliç rasyonlarına yeşil çay veya ekstraktı (10,21,24) ile üzüm çekirdeği tozu (1), üzüm posası ekstraktı (33) ve üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstaktı (27) ilavesinin performans üzerine olumlu etkileri bulunan çalışmalarla bulgularımızın uyumlu olduğu belirlenmiştir. Fitojenik yem katkı maddelerinin mide ve bağırsak salgıları ile enzim aktivitesini stimüle ederek sindirime yardımcı olduğu ve patojenlerin bağırsakta çoğalmasını engelleyerek gastrointestinal sistemde yaşanan sorunları önlediği bilinmektedir (8). Negatif kontrol ve rasyonlarına VitE, ÜÇE ve YÇE ilave edilen etlik piliçlerde yem tüketimleri arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

Polifenolik bileşiklerin reaktif hidroksil grupları, proteinlerin karbonil grubu ile etkileşime girerek proteinler ile kompleks yapılar oluşturmaktadır. Bu durum metabolizmada beslenmeyle alınan veya endojen yolla sentezlenen proteinlerin emilimini ve yararlanımını azaltmaktadır (5). Yang ve ark., (33) yeşil çay yan ürünlerinde bulunan kondanse tanenin 595 mg/kg düzeyinde, Hughes ve arkadaşları (15) ise üzüm

çekirdeğinden elde edilen kondanse tanenlerin 30 g/kg düzeyinde etlik piliçlerin rasyonlarına ilavesinin performans üzerine olumsuz etkisi olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda büyüme performansının olumsuz etkilenmemesinin, deneme gruplarına ilave edilen doğal antioksidanların zararlı etkiye yol açacak düzeyde tanen içermemesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Et pH değerleri, saklama stabilitesinin ölçülmesi için önemli bir fizikokimyasal parametredir (2). Gruplar arasında pH değerleri açısından bir fark gözlemlenmemiştir ($P>0,05$). Bu açıdan sonuçlarımız, rasyonlarına yeşil çay yan ürünleri ilave edilmesinin keçi etlerinin (2), rasyonlarına vitamin E ve yeşil çay polifenollerini (3) ile üzüm posası (31) ilavesinin domuz etlerinin pH değerlerini etkilemediğini gösteren literatürler ile uyum içerisinde. Yaptığımız çalışmada göğüs ve but etleri pH değerleri, kesim sonunda olması istenilen 5,6-5,7 seviyesinin üstündedir. Bu durumun nedeninin, kesim sırasında hayvanlara bayıltma uygulanmadığı için çırpınma sırasında dokulardaki pH düzeyi ve laktik asit oluşumunu etkileyen kas glikojenlerinin bir kısmını tüketmesi olduğu düşünülmektedir (30).

Oksidatif strese karşı metabolizma enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan

savunma sistemlerine sahiptir. Enzimatik olmayan antioksidanların bir kısmı organizma tarafından sentezlenebilirken, bir kısmı da tüketilen gıdalardan temin edilmektedir. Gıdalar ile alınan antioksidanlar plazma ve dokularda serbest radikal reaksiyonlarını bozarak reaktif oksijen türlerinin üretilmesini önlemektedir (29). Bu açıdan gıdalar ile alınan antioksidanlar hem dokulardaki TAA hem de antioksidan enzim seviyesini düşürmektedir. Çalışma sonucunda VitE'nin, diğer antioksidanlara göre antioksidan aktivite açısından daha etkili bir doğal antioksidan olduğu belirlenmiştir. Denememizin sonucu Vossen ve ark., (29) çalışmasıyla uyumluluk göstermektedir. Alfa-tokoferol'ün memelilerde yağda çözülen antioksidanlar arasında en etkili olduğu başka çalışmalarda da ifade edilmiştir (3,16). Doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyonu olan lipid peroksidasyon sonucunda ortaya çıkan ikincil ürünler arasında malondialdehit (MDA) ön plana çıkmaktadır. MDA'nın tiyobarbitürik asit ile kolaylıkla reaksiyona girmesi nedeniyle TBARS yöntemi metabolizmadaki bağlı ve serbest MDA seviyesini belirlenmesinde uzun bir süredir kullanılmaktadır (4). Çalışmamızda karaciğer ve plazma TBARS değerleri incelendiğinde en düşük değerlerin E vitamini ilave edilen gruplarda olduğu

gözlemlenmektedir. Chae ve arkadaşları (6) etlik piliç rasyonlarına 200 mg/kg alfa-tokoferol ilavesinin kesim sonrası göğüs etinde TBARS miktarını azalttığını bildirmiştir. Li ve ark.,(18) da 200 mg/kg alfa-tokoferol'ün kas dokusunda TBARS seviyesini azalttığını ifade etmektedir. Yapılan bir çalışmada gıdalar ile alınan antioksidanların dokulardaki TBARS değerlerine farklı düzeylerde etkiye yol açtığı ifade edilmiştir. Ayrıca vitamin E'nin karaciğer TBARS seviyesini selenyum, β -karoten ve koenzim Q₁₀'dan daha fazla azalttığı da bildirilmiştir (17). Çalışmamız sonucunda rasyonlarına YÇE ilave edilen grubun karaciğer TBARS değeri NK'den bile yüksek çıkmıştır. Smet ve ark., (26) etlik piliç rasyonlarına çeşitli doğal antioksidanların ilave edilmesinin et TBARS değerlerine etkisini incelediği bir çalışmada, YÇE açısından çalışmamıza benzer sonuçlar bulunmuş olup bu durumun kullanılan YÇE'nin pro-oksidatif doz etkisinin kateşin düzeylerinin farklı olmasına bağlı olabileceğini bildirmiştir.

Çalışmamız sonucunda doğal antioksidanların canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışını olumlu etkilediği, yemden yararlanma oranını ise iyileştirdiği gözlenmiştir. Antioksidan aktivite ve metabolizmada lipid peroksidasyon sonucu oluşan yan ürünlerin temizlenmesi açısından ise E vitamininin

diğer doğal antioksidanlara kıyasla daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Teşekkür

Yazarlar çalışmada kullanılan yem katkı maddeleri için Vimar A.Ş. ve etlik civcivleri için ise Beypiliç A.Ş'ye, antioksidan parametre analizlerinin yapımında görüş ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Tevhide SEL'e teşekkür ederler.

Kaynaklar

1. **Abu Hafsa SH, Ibrahim SA** (2017): *Effect of dietary polyphenol-rich grape seed on growth performance, antioxidant capacity and ileal microflora in broiler chicks*. J Anim Physiol Anim Nutr, DOI: 10.1111/jpn.12688:1-8.
2. **Ahmed ST, Lee JW, Mun HS, Yang CJ** (2015): *Effects of supplementation with green tea by products on growth performance, meat quality, blood metabolites and immune cell proliferation in goats*. J Anim Physiol Anim Nutr, **99(6)**: 1127-1137.
3. **Augustin K, Blank R, Boesch-Saadatmandi C, Frank J, Wolfram S, Rimbach G** (2008): *Dietary green tea polyphenols do not affect vitamin E status, antioxidant capacity and meat quality of growing pigs*. J Anim Physiol Anim Nutr, **92(6)**: 705-711.
4. **Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S** (2014): *Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal*. Oxid Med Cell Longev, 1-31.
5. **Brenes A, Viveros A, Goñi I, Centeno C, Sayago-Ayerdy SG, Arija I, Saura-Calixto F** (2008): *Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens*. Poult Sci, **87(2)**: 307-316.
6. **Chae BJ, Lohakare JD, Choi JY** (2006): *Effects of incremental levels of α -tocopherol acetate on performance, nutrient digestibility and meat quality of commercial broilers*. Asian-Aust J Anim Sci, **19(2)**: 203-208.
7. **Dawson B, Trapp RG** (2001): *Basic and Clinical Biostatistics*. 3rd edn. Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York.
8. **Delles R** (2013): *Dietary Antioxidant Supplementation (Economase-Bioplex) To Alleviate Adverse Impacts Of Oxidized Oil On Broiler Meat Quality: A Chemical, Textural, Enzymatic, And Proteomic Study*. PhD Thesis, University of Kentucky, College of Agriculture, Food and Environment, Lexington, KY, USA.
9. **Eid YZ, Ohtsuka A, Hayashi K** (2003): *Tea polyphenols reduce glucocorticoid-*

- induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens.* Br Poult Sci, **44(1)**: 127-132.
- 10. El-Deek AA, Al-Harathi MA, Osman M, Al-Jassas F, Nassar R** (2012): *Effect of different levels of green tea (Camellia sinensis) as a substitute for oxytetracycline as a growth promoter in broilers diets containing two crude protein levels.* Arch Geflügelk, **76(2)**: 88- 98.
- 11. Erbaş M, Gül S, Şekerci H** (2008): *Fonksiyonel gıda bileşeni olarak diyetsel antioksidanlar.* Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- 12. Erener G, Ocak N, Altop A, Cankaya S, Aksoy HM, Ozturk E** (2011): *Growth performance, meat quality and caecal coliform bacteria count of broiler chicks fed diet with green tea extract.* Asian-Aust J Anim Sci, **24(8)**: 1128-1135.
- 13. Garrido MD, Auqui M, Martí N, Linares MB** (2011): *Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction system on meat quality of pork burgers.* Food Sci Techno, **44**: 2238-2243.
- 14. Giannenas I, Pappas IS, Mavridis S, Kontopidis G, Skoufos J, Kyriazakis I** (2010). *Performance and antioxidant status of broiler chickens supplemented with dried mushrooms (Agaricus bisporus) in their diet.* Poult Sci, **89(2)**: 303-311.
- 15. Hughes RJ, Brooker JD, Smyl C** (2005): *Growth rate of broiler chickens given condensed tannins extracted from grape seed.* Aust Poult Sci Symp, Poultry Research Foundation, University of Sidney, Sidney, Australia: 56-68.
- 16. Kamal-Eldin A, Appelqvist LÅ** (1996): *The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols.* Lipids, **31(7)**: 671-701.
- 17. Leibovitz B, Hu ML, Tappel AL** (1990): *Dietary supplements of vitamin E, β -carotene, coenzyme Q₁₀ and selenium protect tissues against lipid peroxidation in rat tissue slices.* J Nutr, **120(1)**: 97-104
- 18. Li WJ, Zhao GP, Chen JL, Zheng MQ, Wen J** (2009): *Influence of dietary vitamin E supplementation on meat quality traits and gene expression related to lipid metabolism in the Beijing-you chicken.* Br Poult Sci, **50(2)**: 188-198.
- 19. Perumalla AVS, Hettiarachchy NS** (2011): *Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality.* Food Res Int, **44(4)**: 827-839.
- 20. Rebolé A, Rodríguez ML, Ortiz LT, Alzueta C, Centeno C, Viveros A, Brenes A, Arij I** (2006): *Effect of dietary high-oleic*

- acid sunflower seed, palm oil and vitamin E supplementation on broiler performance, fatty acid composition and oxidation susceptibility of meat.* Br Poult Sci, **47(5)**: 581-591.
- 21. Rowghani E, Tabeidian SA, Abolfathi E** (2016): *The effects of green tea extract and vitamin E on the growth performance and immune response in broiler chicks.* Res Opin Anim Vet Sci, **6(7)**: 200-205.
- 22. Sahin K, Sahin N, Onderci M, Yaralioglu S, Kucuk O** (2001): *Protective role of supplemental vitamin E on lipid peroxidation vitamins E, A and some mineral concentrations of broiler reared under heat stress.* Vet Med-Czech, **5**, 140-144.
- 23. Sanz M, Flores A, Perez de Ayala P, Lopez-Bote CJ** (1999): *Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats.* Br Poult Sci, **40(1)**: 95-101.
- 24. Shalid W, Ahmad A, Mangaiyarkarasi R, Omer M, Shahina N, Abdurraheem U, Rahmanullah S, Zahra Y** (2013): *Effect of polyphenolic rich, green tea extract as antioxidant on broiler performance during 0-4 weeks.* Int J Adv Res, **1(9)**: 177-181.
- 25. Simitzis PE, Symeon GK, Charismiadou MA, Ayoutanti AG, Deligeorgis SG** (2011): *The effects of dietary hesperidin supplementation on broiler performance and chicken meat characteristics.* Can J Anim Sci, **91(2)**: 275-282.
- 26. Smet K, Raes K, Huyghebaert G, Haak L, Arnouts S, De Smet S** (2005). *Influence of feed enriched with natural antioxidants on the oxidative stability of broiler meat.* XVIIth European Symposium on the Quality of Poultry Meat, Doorwerth, The Netherlands, 23-26 May 2005.
- 27. Wang ML, Suo X, Gu JH, Zhang WW, Fang Q, Wang X** (2008): *Influence of grape seed proanthocyanidin extract in broiler chickens: effect on chicken coccidiosis and antioxidant status.* Poult Sci, **87(11)**: 2273-2280.
- 28. Villar-Patiño G, Díaz-Cruz A, Ávila-González E, Guinzberg R, Pablos JL, Piña E** (2002): *Effects of dietary supplementation with vitamin C or vitamin E on cardiac lipid peroxidation and growth performance in broilers at risk of developing ascites syndrome.* Am J Vet Res, **63(5)**: 673-676.
- 29. Vossen E, Ntawubizi M, Raes K, Smet K, Huyghebaert G, Arnouts S, De Smet S** (2011): *Effect of dietary antioxidant supplementation on the oxidative status of plasma in broilers.* J Anim Physiol Anim Nutr, **95(2)**: 198-205.
- 30. Wood DF, Richards JF** (1975): *Effect of some antemortem stressors on postmortem*

aspects of chicken broiler Pectoralis muscle.

Poultry Sci, **54**, 528–531.

31. Yan L, Kim IH (2011): *Effect of dietary grape pomace fermented by Saccharomyces boulardii on the growth performance, nutrient digestibility and meat quality in finishing pigs.*

Asian-Aust J Anim Sci, **24(12)**: 1763-1770.

32. Yang CJ, Yang IY, Oh DH, Bae IH, Cho SG, Kong IG, Uuganbayar IS, Choi KS (2003): *Effect of green tea by-product on performance and body composition in broiler chicks.* Asian-Aust J Anim Sci, **16(6)**: 867-872.

33. Yang JY, Zhang HJ, Wang J, Wu SG, Yue HY, Jiang XR, Qi GH (2016): *Effects of dietary grape proanthocyanidins on the growth performance, jejunum morphology and plasma biochemical indices of broiler chicks.* Animal, **11(5)**: 762-770.

Geliş Tarihi: 22/3/2017 Kabul Tarihi: 14/4/2017

Yazışma Adresi:

Erinç GÜMÜŞ

T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı

e-posta: erincgumus@gmail.com

Köpek maması seçiminde eğilimlerin belirlenmesi*

Zehra SELÇUK**, Habip MURUZ***

Öz: Dengeli bir diyetle, köpeğin ırkına, yaşına, fizyolojik durumuna ve aktivitesine göre günlük besin madde ve enerji ihtiyaçlarının yeterli düzeyde karşılanması sağlık açısından önem taşır. Bu amaçla ticari firmaların ürettikleri mamaların seçiminde köpek sahiplerinin tercihleri farklılıklar göstermektedir. Yapılan bu çalışmanın amacı, köpek sahipleri tarafından mama seçiminde göz önünde bulundurulmuş bazı kriterlerin belirlenmesidir. Araştırma anketi, 2016 yılı Ocak-Haziran ayları arasında Samsun'da faaliyet gösteren özel bir veteriner hekim muayenehanesine başvuran 25 köpek sahibinin katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, köpek sahiplerinin %80'inin köpek maması alırken mamanın genel içeriğine dikkat ettiği belirlenmiştir. Köpek sahiplerinin %76'sı kuzu etli mamayı tercih ederken, %12'si tavuk etli, %12'si de balık etli mamaları tercih etmiştir. Mamanın lif içeriğine dikkat eden köpek sahibi oranı %56'dır. Kullandıkları mamada omega

3 yağ asiti kaynağının balık yağı olduğunu belirten köpek sahiplerinin oranı %88'dir. Köpek sahiplerinin %48'inin içeriğinde sentetik amino asit bulunan mamaları alırken, %32'sinin bu mamaları tercih etmediği saptanmıştır. Sonuç olarak, köpek sahiplerinin mama seçerken mamanın genel içeriğinin yanı sıra tüm bileşenlerin miktar, kaynak ve kalitesine dikkat etmesi önerilmektedir.

Anahtar sözcükler: Köpek besleme, mama bileşimi, mama seçimi.

The determination of the trends in dog food choice

Abstract: To meet daily nutrient and energy requirements of dogs for breed, age, physiological condition and activity with a balanced diet is essential to keep dog healthy. There are some differences in preferences of dog owners for choosing of dog food produced by commercial companies. The aim of the study was to find out some criteria of dog owners to make food choice for their

* Bu çalışmanın bir kısmı 1. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresinde poster bildiri olarak sunulmuş ve çalışmanın özeti kongrenin bildiriler kitabında yer almıştır.

** Doç. Dr., Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun.

*** Yrd. Doç. Dr., Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun.

dogs. The survey application of the study was performed by a total of 25 dog owners who applied to a private veterinary clinic in Samsun from January to June of 2016. In the study, 80% of dog owners noted to general content of dog food. In the study, the rate of dog owners who preferred to dog food with lamb, chicken and fish meat were 76, 12 and 12%, respectively. Only 56% of dog owners considered fiber content of the dog food. Fish oil was known as omega 3 fatty acid source by 88% of dog owners. Although, some dog owners (32%) did not prefer the dog food containing synthetic amino acids, 48% of them bought to the dog food with synthetic amino acids. In conclusion, dog owners are advised to pay attention to not only the general content of the food, but also the quantity, source and quality of all ingredients when choosing a dog food.

Keywords: Dog nutrition, dog food composition, dog food choice.

Giriş

Son yıllarda Türkiye’de ev ve süs hayvanı üretim, satış, eğitim ve barınma yerleri sayıları ile orantılı olarak bu hayvanları besleyen kişi sayılarında da artış gözlenmektedir. Evde beslenen hayvanlar arasında aynı ortamda yaşadıkları insanlarla rahat iletişim kurabilmeleri, kolay eğitilebilen sadık bir dost ve iyi bir bekçi olmaları nedeniyle

köpekler ilk sırada gelmektedir. Günümüzde büyük şehirlerde yaşamını sürdüren pek çok kişi evlerini dostluklarına güvendikleri bu hayvanlarla paylaşmaktadır. Bu arkadaşlığın uzun sürmesi ve köpeğin sağlığının korunması amacıyla dengeli bir diyetle köpeğin ırkına, yaşına, fizyolojik durumuna ve aktivitesine göre günlük besin madde ve enerji ihtiyaçlarının yeterli düzeyde karşılanması önem taşır.

Çoğu köpek sahibi kendi sağlığından daha çok sorumluluğunu aldığı köpeklerin sağlığı için endişe duymaktadır (8). Özellikle köpeklerin sahipleri tarafından bireyleştirilmesi/insanlaştırılması gerek köpek beslenmesi ya da bakımına ilişkin sektörü ve gerekse tüketici davranışlarını etkileyen bir yaklaşımdır (2).

Köpek sahiplerinin birçoğu sadece kendi tükettikleri gıdaların bileşimine ilişkin değil aynı zamanda köpek mamaları ya da bileşenlerine ilişkin de bilinç kazanmıştır. Tahıllar gibi bazı bileşenlerin potansiyel olumsuz etkilerinden dolayı köpek sahiplerince zararlı algılanması ve hatta tahılsız (grain free) ürünlere sağlık üzerine olumlu etkileri olacağını düşünerek daha pozitif yaklaşımları söz konusudur (3). Bu nedenle ticari firmaların ürettikleri mamaların seçiminde köpek sahiplerinin tercihleri farklılıklar

göstermektedir. Yapılan bu çalışmanın amacı, köpek sahipleri tarafından mama seçiminde göz önünde bulundurulmuş bazı kriterlerin belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem

Araştırma materyalini, 2016 yılı Ocak-Haziran ayları arasında Samsun'un Atakum ilçesinde faaliyet gösteren özel bir veteriner hekim muayenehanesine başvuran, 25 adet köpek sahibi ile yapılan anket çalışmasından elde edilen veriler oluşturdu. Anket sorularının tamamı çoktan seçmeli olarak hazırlandı ve katılımcıların gerektiğinde ek bilgi vermesine olanak sağlayan kısımlar oluşturuldu. Anket katılımcıları, herhangi bir kriter gözetilmeden gönüllü köpek sahiplerinden oluştu. Köpek sahiplerinden toplam 20 adet soruya cevap vermeleri istendi. Sorulara verilen cevaplar sonucunda toplanan veriler SPSS 21 paket programı kullanılarak frekans analizi yöntemi ile değerlendirildi (7).

Bulgular

Genel bilgiler: Ankete katılan köpek sahiplerinin 2 tanesi (%8) lisansüstü eğitim, 10 tanesi (%40) üniversite ve 13 tanesi (%52) lise mezunu olduklarını belirtti. Köpek sahiplerinin %80'ini kadın, %20'si erkekti. Köpek sahiplerinin yaş dağılımı değerlendirildiğinde 40 ile 50 yaş arasında bulunan katılımcı sayısının (15 kişi) en yüksek olduğu (%60)

ve bunu 20 ile 30 yaş arasındakilerin (5 kişi) izlediği (%20) belirlendi. Katılımcıların sahip oldukları köpek ırkları arasında Terrier ırkına ait köpekler % 44'lük oranla başta gelmekteydi. Bu köpek ırkını sırasıyla melez (% 20), Golden Retriever (%12), American Cocker (%8), Dachshund (%8), av köpeği (%4) ve Labrador (%4) ırkına ait köpekler izlemekteydi.

Köpek sahiplerinin mama seçimindeki

kriterler: Köpek sahiplerinin %64'ünün mama seçerken veteriner hekime danıştığı, %28'inin ise veteriner hekime danıştığı ve aynı marka mamayı kullanmaya devam ettiği, %4'ünün veteriner hekime danıştığı ve aynı zamanda araştırma yaptığı ve %4'ünün ise köpek sahibi bir arkadaşına danıştığı saptandı. Anket katılımcılarının hiç birinin mama seçiminde reklamlara göre karar vermediği belirlendi. Köpek sahiplerinin tamamı profesyonel bir mamada olması gerekenler arasında mamanın kemik ve kas gelişimi için gerekli maddeleri içermesi, tüy, deri, kemik ve kas sağlığına katkıda bulunması, köpeğin yaşına, ırkına ve sağlık durumuna uygun olması ve alerji yapmaması gerektiğini belirtti. Köpek sahiplerinin %20'si (5 kişi) düşük kaliteli mamaların yüksek düzeyde tahıl içerdiğini, kalitesiz tahıl/tahıllar kapsadığını, düşük oranda et ve allerjen

maddeler içerdiğini ifade ederken, diğer (12 kişi) vermediği saptandı. Mamaya ilave ev yemekleri verenlerin %24'ünün haftada üç defa, %8'inin haftada bir defa, %8'inin günde bir defa, %4'ünün haftada bir ya da iki defa, %4'ünün iki haftada bir defa olmak üzere genellikle haşlanmış tavuk, ciğer, makarna, pilav ve et tercih ettikleri belirlendi. Köpek sahiplerinin mama seçiminde mamanın bileşimine ilişkin dikkat ettikleri bazı kriterler Tablo 1'de sunulmuştur.

Anket katılımcılarının %52'sinin (13 kişi) mamaya ilave ev yemekleri verdiği, %48'inin

(12 kişi) vermediği saptandı. Mamaya ilave ev yemekleri verenlerin %24'ünün haftada üç defa, %8'inin haftada bir defa, %8'inin günde bir defa, %4'ünün haftada bir ya da iki defa, %4'ünün iki haftada bir defa olmak üzere genellikle haşlanmış tavuk, ciğer, makarna, pilav ve et tercih ettikleri belirlendi. Köpek sahiplerinin mama seçiminde mamanın bileşimine ilişkin dikkat ettikleri bazı kriterler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1: Köpek sahiplerinin mama bileşimine ilişkin dikkat ettikleri bazı kriterler

Table 1: Some criteria that dog owners consider when choosing a dog food

Kriterler	Frekans	%
Mamanın genel içeriğine dikkat eden	20	80
Mamadaki et içeriğinin miktarına ve çeşidine dikkat eden	18	72
Kuzu etli mama tercih eden	19	76
Tavuk etli mama tercih eden	3	12
Balık etli mama tercih eden	3	12
Mamanın lif içeriğine dikkat eden	14	56
Omega 3 yağ asiti kaynağının balık yağı olduğunu belirten	22	88
Bileşiminde sentetik amino asit bulunan mama tercih eden	12	48
Bileşiminde glukozamin, kondroitin, L-karnitin vb olan mama tercihi	18	72
Bileşiminde vitamin ve mineral bulunan mama kullananlar	25	100
Orijini belli hayvansal yağ, pirinç, mısır ve mısır gluteni içeren mama kullananlar	7	28
Kullandığı mamadan memnun olanlar	25	100

Tartışma ve Sonuç

Yapılan çalışmada anket katılımcılarının yaklaşık yarısının üniversite veya lisansüstü eğitim mezunu bir meslek sahibi olduğu belirlendi. Katılımcıların sahip oldukları köpekler arasında küçük cüsseli Terrier ırkı

köpeklerin yüzdesinin fazla olması bu ırk köpeklerin sosyal, sevimli ve canlı bir mizaca sahip olması yanı sıra özellikle büyükşehirlerde genellikle apartman dairelerinde bir yaşam

söz konusu olduğundan tercih edildiği düşünülmektedir.

Çoğu köpek sahibi kendi gıdalarındaki bileşenler dışında köpek mamalarındaki bileşenlere de dikkat etmektedir. Yapılan bu çalışmada köpek sahiplerinin tamamı mamanın kemik ve kas gelişimi için gerekli maddeleri içermesinin, tüy, deri, kemik ve kas sağlığına katkıda bulunmasının, köpeğin yaşına, ırkına ve sağlık durumuna uygun olmasının ve alerji yapmamasının profesyonel bir mamada olması gerektiğini bildirmişlerdir. Köpek maması üreticileri, köpeklerin insanlar gibi yüksek kaliteli diyetlerle beslenmeleri gerektiğini ifade etmektedir (6). Bu nedenle kendi ürünleri için “doğal-natural”, “organik-organic” gibi bazı ifadeler kullanmaktadırlar (1). Ankete katılan köpek sahiplerinin %80’inin mamanın genel içeriğine dikkat etmesi bu durumu desteklemektedir.

Köpek mamalarının bileşimde kullanılan etin kuzu eti, tavuk eti gibi orijininin belirtilmesi de mamanın protein içeriğinin yüksek kalitede olduğuna ilişkin tüketiciye bilgi vermektedir. Özellikle orijini belirtilse bile yan ürünler ifadesi taşıyan (chicken, beef, lamb by-products gibi) rendering ürünlerini kapsayan mamalar bu bileşenleri içerdiklerinde doğrudan orijini belli et kapsayan mamalara göre daha düşük kalitelidir.

Yapılan bu çalışmada köpek sahiplerinin %72’si mamadaki et içeriğinin miktarına ve çeşidine dikkat ettiğini ifade etmiştir. Köpek sahipleri mama tercihini orijini belli farklı tür et kapsayan mamalardan yana kullanmışlardır. Soya ürünlerinin özellikle duyarlı köpeklerde alerji tehlikesi yaratabildiği bildirilmektedir (5) ve bu nedenle soya ve ürünlerini içeren mamaların özellikle bu ürünlere karşı alerjisi olan ırkların beslenmesinde kullanılması sonucu meydana gelebilecek alerji riskinin göz önüne alınması gereken bir durumdur. Yapılan bu çalışmada köpek sahiplerinin mama bileşimindeki yüksek düzeyde tahıl içeriğinin, düşük oranda et oranının, hayvansal yan ürün gibi kalitesiz protein kaynaklarının, katkı, koruyucu ve kimyasal maddelerin kaliteyi düşürdüğünü belirtmesi bu durumu destekler niteliktedir. Bununla beraber, yapılan çalışmada anket katılımcılarının mama seçiminde reklamlara göre karar vermemesi, büyük bir kısmının mama tercihinde veteriner hekime danışması hekim tavsiyesinin güvenilir ve tatmin edici olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Vitamin ve mineraller mamalarda bulunması gereken önemli bileşenlerdendir. Yapılan bu çalışmada da köpek sahiplerinin tamamı bileşiminde vitamin ve mineral bulunan mamaları tercih ettiklerini ifade

etmişlerdir. Sülfat ve oksit temelli mineral ilaveleri genellikle şelatlarla göre düşük düzeyde absorbe edilen mineral kaynaklarıdır. Mamalarda şelatlar, proteinatlar, amino asit şelatları ya da kompleksleri gibi adlandırılmış minerallerin tercih edilmesi absorpsiyonu olumlu etkilemektedir. Bununla beraber, zamana bağlı salınımı gerçekleşen C vitamininin (ester C, kalsiyum askorbat, stabilize vitamin C ya da L-Askorbil-2-Polifosfat gibi), doğal E vitamininin (doğal tokoferol) ve K vitamininin doğal kaynakları olan yumurta sarısı ve karaciğer gibi bileşenlerin mamalarda tercih edilmesi (3) metabolizmada daha etkili olmaktadır. Anket katılımcılarının önemli bir kısmının mama seçiminde bileşime dikkat etmesi ve veteriner hekime danışması sorumluluklarını aldıkları köpeklerin ihtiyaçlarının karşılanarak sağlıklarının korunması isteğinden kaynaklanabilir.

Yapılan bu çalışmada köpek sahiplerinin %28'i bileşiminde orijini belli hayvansal yağ, pirinç, mısır ve mısır gluteni bulunan mama kullanmaktadır. Hayvansal yağın orijininin belli olması mama seçiminde iyi bir tercih kriteridir. Bazı köpeklerin diyetle bulunan fazla karbonhidrata toleransı yüksek olmasına karşın bazılarının toleransı düşüktür. Bununla beraber gluten bir bitkisel protein

olup, bu maddeye karşı duyarlılığı bulunan köpeklerin mamalarında bulunmaması gerekmektedir. Böyle durumlarda tahıl kapsamayan mamaların tercihi bir alternatif olarak düşünülebilir. Bununla beraber, sağlık açısından yüksek düzeyde gluten kapsayan tahıllar (arpa, buğday, yulaf, çavdar gibi) yerine gluten miktarı daha düşük pirinç, sorgum, darı, kinoa gibi tahılları içeren mamalar da tercih edilebilir. Köpek besleme alanındaki ilerlemeler köpeklerin uzun ve sağlıklı bir ömre sahip olmasına katkı sağlamaktadır. Besin madde sınıflandırmasında diyetle lif pet mama endüstrisinde önem kazanmıştır. Köpek mamalarına katılan esmer pirinç, şeker pancarı posası gibi lif içeriğine sahip olan bileşenler mamadaki lif içeriğinin düzenlenmesine katkı sağlar. de Godoy ve ark., (4), diyetle lifin bağırsak hareketlerinin düzenlenmesine, bağışıklık fonksiyonu ve bağırsak mikrobiyota profiline, kalori yoğunluğunun azaltılmasına katkıda bulunarak pet populasyonunda görülen diabetes mellitus ve obezite insidansının azaltılmasına önemli katkı sağlayacağını ifade etmektedir. Yapılan çalışmada da anket katılımcılarının %56'sının mamadaki lif miktarına dikkat etmesinin köpek beslenmesinde de diyetle lifin önem taşımalarının bilinmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, köpeğin sağlığının sürdürülmesi ve daha uzun süre yaşayabilmesi dostluklarını ve yaşamlarını paylaştıkları sahiplerinin elindedir. Bu nedenle köpek sahiplerinin mama seçerken mamanın genel içeriğinin yanı sıra tüm bileşenlerin miktar, kaynak ve kalitesine dikkat etmesi önerilmektedir.

Teşekkür

Yapılan bu anket çalışmasına katılan köpek sahiplerine ve anket çalışmasında bizden desteklerini esirgemeyen Veteriner Hekim Elif Köse'ye teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. **Bohrer T** (2011): *Pet food packaging: evolution, revolution, and innovation*. Erişim: <http://pffc-online.com/flexpack/9770-pet-food-evolution>. Erişim Tarihi: 24.10.2016.
2. **Boya UO, Dotson MJ, Hyatt EM** (2012): *Dimensions of the dog-human relationship: a segmentation approach*. *Journal of Targeting, Measurement, and Analysis for Marketing*, **20**, 133-143.
3. **Contreras S** (2007): *Ingredients to avoid. Dog Food Project*. Erişim: www.dogfoodproject.com. Erişim Tarihi: 31.10.2016.
4. **de Godoy MRC, Kerr KR, Fahey GC** (2013): *Alternative dietary fiber sources in companion animal nutrition*. *Nutrients*, **5**, 3099-3117.

5. **Didier-Noël Carlotti** (2017): *Food Allergy in Dogs and Cats: Current Dermatological Perspectives*. <http://www.ddlzagreb.hr/wp-content/uploads/2015/06/food-allergy-in-dogs-and-cats.pdf>.

6. **Fleener DG** (2009): *Only the best for fido and fluff*. *Progressive Grocer*, **88**, 12-14.

7. **SPSS** (2012): *IBM SPSS Statistics, version 21*. IBM Corp.

8. **Tesfom G, Birch N** (2010): *Do they buy their dogs the way they buy for themselves?* *Psychology and Marketing*, **27**, 898-912.

Geliş Tarihi: 4/11/2016 Kabul Tarihi: 23/3/2017

Yazışma adresi:

Doç. Dr. Zehra Selçuk

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları

Anabilim Dalı,

Kurupelit Kampüsü, Atakum, Samsun

e-posta: zselcuk@omu.edu.tr

Çevresel sigara dumanının köpeklerdeki etkileri: ön rapor

Onur İSKEFLİ* , Alper BAYRAKAL* , Kutay YILDIZ** , Sinem Ülgen
SAKA* , Abdullah KAYAR*** , Mehmet Erman OR***

Öz: Çevresel sigara dumanının, insanlar üzerinde olan etkileri çocuklar, ergenlik çağındaki gençler, yetişkinler ve evcil hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Çevresel sigara dumanının etkileri üzerine yapılan çalışmalar 3 farklı yöntem esasına dayandırılmaktadır. Bunlar; belirli sürelerle deney hayvanlarına sigara dumanının solutulduğu deneysel çalışmalar, deneklerden alınan kıl, idrar, tırnak veya biyopsi materyallerindeki kotinin ve nikotin seviyelerinin ölçümü esasına dayalı çalışmalar ya da beyan esas alınarak yapılan anket çalışmaları şeklindedir. Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniği'ne muayene için getirilen 78 adet köpeğin sahipleri arasında randomize olarak yapılan anketler materyal olarak kullanılmıştır. Bu anketlerden amaç ev içinde, ne miktarlarda sigara içildiği ve sigara içilen alanların havalandırılıp havalandırılmadığı sorularak, bunların sistem hastalıkları ile

korelasyonları araştırılmıştır. İstatistik analizler için *ki-kare testi* kullanılmıştır. Hastalık dağılımlarının ortamda sigara içilip içilmediğine göre yapılan analizleri için ise yüzdelik dağılım kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; çevresel sigara dumanına maruz kalan köpeklerde en sık kardiyolojik ve dermatolojik hastalıklara rastlanıldığı, içilen sigara miktarının artışı ile kardiyolojik ve dermatolojik hastalıklarda istatistiksel anlamlılık olduğu (sırasıyla, $p<0,001$; $p<0,05$) bulunmuştur. Havalandırma süresinin artışı ile hastalıkların ortaya çıkışının azalması beklenirken, aksine havalandırma süresinin uzamasıyla birlikte doğru orantılı olarak kardiyolojik ve dermatolojik hastalıkların görülmesindeki artış arasında anlamlı düzeyde veriler elde edilmiştir (sırasıyla, $p<0,001$; $p<0,05$).

Sonuç olarak, sigara tüketiminin, köpeklerde kardiyolojik ve dermatolojik hastalıkların görülmesi üzerine etkisinin olabileceği, tüketimin artmasının bu

* Araş.Gör.Dr., İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul.

** Veteriner Hekim, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul

*** Prof.Dr., İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul.

hastalıkların görülme olasılığını artırabileceği ve sigara içilen ortamın havalandırılmasının maruziyeti azaltmayabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Köpek, sigara, anket

Effects of environmental tobacco smoke in dogs: preliminary report

Abstract: Impact of Environmental Tobacco Smoke have been revealed by research conducted on children, adolescents, adults and pets. Studies on the effects of environmental tobacco smoke is based to three different methods. Experimental studies with application of cigarette smoke as inhalation at certain times to the test animals, studies of cotinine and nicotine levels are measured by hair, urine, nail or biopsy materials taken from subjects and survey based studies. In the study, seventy-eight dogs who were brought to the Istanbul University, Faculty of Veterinary Medicine, Training and Research Hospital, Internal Medicine Department Clinic for examination by pet owners and the questionnaires were distributed to pet owners as randomized and the forms were used as material. With the questionnaire, frequency of daily cigarette consumption of pet owners at home and how long the house is ventilated after the consumption of cigarette were evaluated as correlation of diseases and effects of environmental tobacco smoke. Chi-squared (X^2) test was used for analysis and disease analysis was made by frequency distribution,

according to smoking or not. According to the results, it was found that dogs exposed to environmental tobacco smoke had the most frequent cardiologic and dermatological diseases. It was found that there was a significant correlation between the increasing cigarette consumption with the cardiologic and dermatological diseases ($p<0.001$, $p<0.05$ respectively). While the increase of the ventilation period is expected to decrease the occurrence of diseases, contrarily significant data was obtained between the prolongation of the ventilation period and increased incidence of cardiologic and dermatological diseases ($p<0.001$, $p<0.05$ respectively).

As conclusion that cigarette consumption may have an impact on the appearance of cardiologic and dermatological diseases in dogs, increased cigarette consumption may increase the likelihood of these diseases, and ventilating the smoking environment may not reduce exposure.

Keywords: Cigarette, dog, survey

Giriş

Çevresel sigara dumanı, insanlar üzerinde olduğu kadar evde yaşayan hayvanlar üzerinde de çeşitli olumsuz etkiler oluşturmaktadır (1, 3, 10, 11, 12). Sigara içeriğinde nikotin, zifir, karbonmonoksit ve çeşitli ağır metalleri barındırmaktadır (16). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2009'daki raporuna göre Avrupa kıtasında 13-15 yaşlarındaki çocukların diğer kıtalardakilere göre çevresel sigara

dumanına çok daha fazla maruz kaldıkları bildirilmiştir (17). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı'nın 2015 yılında güncellemiş olduğu bilgilendirmede ise, ülkemizde yılda 100 bin kişi tütün kullanımına bağlı olarak hayatını kaybetmektedir (15). Dünyada evcil hayvanlarda çevresel sigara dumanının etkilerini araştırmak üzere çeşitli araştırmalar yapılmış, gerek epidemiyolojik çalışmalarda gerekse de nikotin metabolitlerinin kıl, kan ve idrar gibi vücut örneklerinden tespitleriyle pasif içiciliğin etkileri ortaya konmuştur (1, 7, 8, 12). Ancak ülkemizde evcil hayvanların çevresel sigara dumanına ne kadar maruz kaldıkları ve bu hayvanlarda hangi hastalıklarla karşılaştığı ile ilgili araştırma bulunmamaktadır. Buradan yola çıkarak, muayene için getirilen köpeklerde çevresel

sigara dumanının etkilerini araştırmak üzere bir anket çalışması planlanmıştır ve bu amaçla, sunulan çalışmada sigara içilen evlerde yaşayan köpeklerde, sigara içilme oranlarıyla organ sistemlerinde oluşan hastalık oranları arasında korelasyonun olduğu hipotezi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu amaçla, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Poliklinikleri'ne muayene amacıyla getirilen, 78 adet köpeğin hasta yakınlarına, doldurulmak üzere rastgele verilen, 10 soruluk anket formları materyal olarak kullanılmıştır. (Şekil 1a, Şekil 1b).

Muayene veya aşı için başvuran ve gönüllü olarak katılmayı kabul eden hasta sahiplerine, muayene kaydı öncesinde, anket formları

Bu anket, çevresel sigara dumanının, evcil hayvanlar üzerindeki etkilerini araştırmak için hazırlanmış bir ön değerlendirme niteliğindedir. Elde edilecek sonuçlar ulusal veya uluslararası bilimsel dergilerde yayınlanacak makalelerde yer alacaktır. Ancak hasta ve yakınlarına ait bilgiler, tarafımızca gizli tutulacaktır. Daha verimli sonuçlar elde edilebilmesi ve yapılacak araştırmalar sonucunda hayvanlara daha yüksek yaşam kalitesi sağlanabilmesi için yanıltıcı cevaplar verilmemesi rica olunur. Katıldığınız için teşekkür ederiz. İ.Ü. Veteriner Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Protokol Numarası:

1- Evcil hayvanınızın türü:

Kedi Köpek

2- Evcil hayvanınızın ırkı, yaşı ve cinsiyeti: Dişi Erkek

3- Evcil hayvanınız öksürüyor mu?

Evet Hayır

1-5 kez 5-10 kez 0-15 kez

Şekil 1a: Anket Formu.

Figure 1a: Questionnaire Form.

4- Evcil hayvanınız hangi ortamda bakılıyor?
Ev Bahçe vs.

5- Evcil hayvanınız ne kadar süredir sizinle yaşıyor?

6- Evcil hayvanınızın bulunduğu oıtanıda sigara içiliyor mu? (Siz veya evinizde yaşayan diğer kişiler olabilir)
Evet Hayır

6. soruya “Hayır” cevabı verdiyseniz bundan sonraki sorulan cevaplamamız gerekmemektedir.

7- Evcil hayvanınızın bulunduğu oıtamda günlük ortalama kaç adet sigara içiliyor?
1-5 adet 5-10 adet 10-15 adet 20 adet ve üzeri

8- Evinizde sigara içmek için hangi alan tercihi ediliyor?
.....

9- Evcil hayvanınız yanında sigara içildiğinde buhmduğu yerden uzaklaşıyor mu?
Evet Hayır

10- Evinizde sigara içtikten sonra oıtamı ne kadar süreyle havalandırılıyorsunuz?
Havalandırılmıyor 0-15 dk 15-30 dk
30-60 dk 60 dk ve üzeri

Şekil 1b: Anket Formu.

Figure 1b: Questionnaire Form.

verilerek formların doldurulması sağlanmıştır. Daha sonra hastanın muayenesi yapılmış ve gerekli tetkikler sonrasında kesin tanı, anket formalarına eklenmiştir. Ön rapor olarak değerlendirilen çalışmada vaka sayısının sınırlı olması ve araştırmanın devam ediyor olması sebebi ile ırk, yaş, cinsiyet analizleri ve hayvanların sigara dumanına karşı verdiği tepkiler değerlendirmeye dahil edilmemiş olmakla beraber, öncelikli olarak;

köpeğin bulunduğu ortamda sigara içilip içilmediği, eğer içiliyorsa günlük ortalama kaç adet sigara içildiği ve sigara içildikten sonra ortamın ne kadar süreyle havalandırıldığı, soruları üzerinde durularak istatistiki analizler yapılmıştır. Hayvan sahipleri ile bire bir görüşme ile gerçekleştirilen soru-cevap esnasında, hayvan sahiplerinin, anket çalışması olması sebebi ile normale göre daha az sigara içtiklerini gösteren seçenekleri tercih

etme ihtimali, çalışmanın sınırlayıcı unsuru olarak düşünülmüştür.

İstatistik analizler için ki-kare testi kullanılmıştır. Hastalık dağılımlarının ortamda sigara içilip içilmediğine göre yapılan analizleri için ise yüzdelik dağılım kullanılmıştır.

Bulgular

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Poliklinikleri'nde muayene edilen 78 adet köpeğin, 39 adedi sigara içilen, diğer 39 adedi ise sigara içilmeyen ortamlarda yaşadıkları tespit edilmiştir. Halen devam etmekte olan araştırmada elde edilen mevcut sayı, ön rapor olarak değerlendirilmek istenmiştir. Bu sebeple rastgele eşit sayıda ayrılmış olan gruplarda cinsiyet tabakalandırılması yapılmamıştır. Sigara içilen ortamda yaşayan 39 adet köpeğin cinsiyet dağılımı 21 adet dişi (%53,8), 18 adet (%46,2) erkek olarak belirlenmiştir. Sigara içilmeyen ortamda yaşayan köpeklerin ise 15 adet (%38,5) dişi, 24 adet (%61,5) erkek olduğu tespit edilmiştir. Sigara içilen ve içilmeyen ortamda yaşayan köpeklerin, sistem hastalıklarının, cinsiyete göre sistematik tanı dağılımları Tablo 1'de görülmektedir. Sigara içilen ya da içilmeyen ortamda yaşayan köpeklerde benzer kardiyolojik ve dermatolojik hastalık oranlarına rastlanmıştır.

Buna göre sigara içilen ortamda yaşayanlar arasında sağlıklı olarak tespit edilen bir vaka olmamıştır. Sigara içilen grupta kardiyolojik hastalıkların görüldüğü ırklar; Alman Çoban Köpeği, Golden Retriever, Boxer, Cocker Spaniel, Rottweiler, Pekingese, Jack Russel, Yorkshire Terrier ve terrier melezleri olarak saptanmıştır. 2-14 yaş aralığı olan bu köpeklerin yaş ortalaması 7,18'dir. Sigara içilen ortamda yaşayan köpeklerde dermatolojik hastalıkların görüldüğü ırklar ise Pekingese, Golden Retriever, Pitbull ve Terrier olduğu tespit edilmiştir. Bu gruptaki hastaların yaş aralığı 5-9 yaş olmakla beraber yaş ortalaması 5,71'dir.

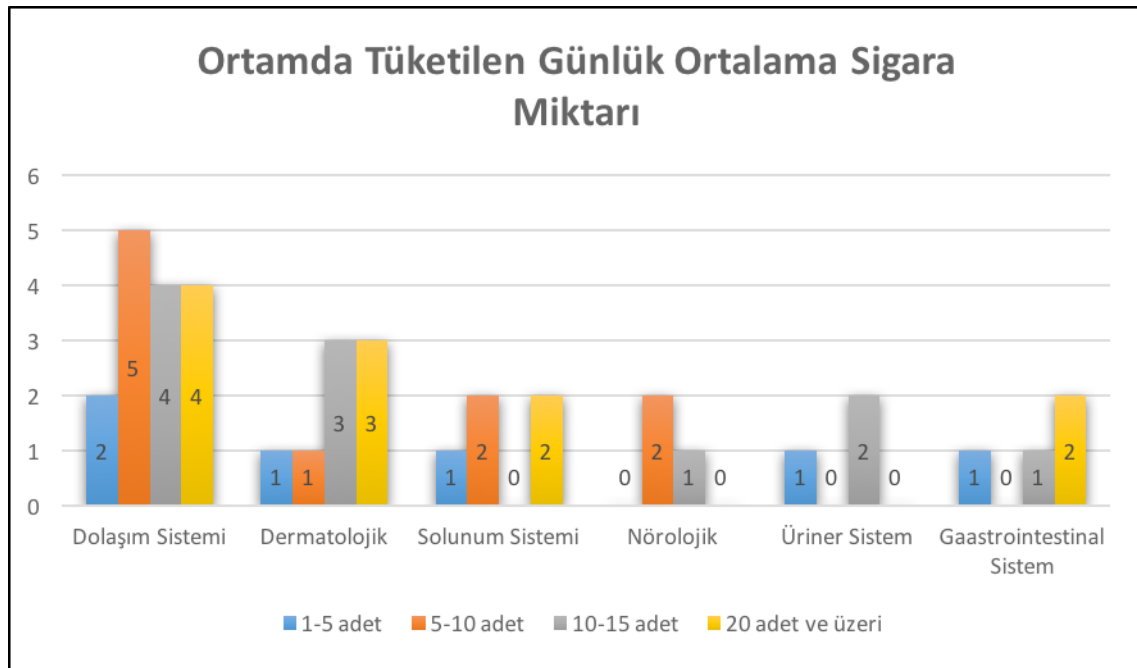
Tablo 1: Sigara içilen ve içilmeyen ortamda yaşayan köpeklerin sistem hastalıklarına ve cinsiyetlerine göre sistematik tanı dağılımları.

Table 1: The systematic diagnosis distribution according to system of diseases and gender in dogs living in the smoking or non-smoking environment.

SİSTEMATİK TANI	Sigara içilen ortam (<i>smoking environment</i>)			Sigara içilmeyen ortam (<i>non-smoking environment</i>)		
	n	Erkek (n)	Dişi (n)	n	Erkek (n)	Dişi (n)
Dolaşım Sistemi	16 (%41,02)	8 (%44)	8 (%38)	14 (35,89)	11 (%45,8)	3 (%20)
Dermatolojik	7 (%17,94)	3 (%17)	4 (%19)	8 (20,51)	5 (%20,8)	3 (%20)
Üriner Sistem	3 (%7,69)	-	3 (%14)	2 (%5,12)	1 (%4,16)	1 (%6,6)
Solunum Sistemi	6 (%15,38)	3 (%17)	3 (%14)	1 (%2,56)	-	1 (%6,6)
Nörolojik Sistem	3 (%7,69)	2 (%11)	1 (%5)	3 (%7,69)	1 (%4,16)	2 (%13,3)
Sindirim Sistemi	4 (%10,25)	2 (%11)	2 (%10)	2 (%5,12)	2 (%8,33)	-
Çoklu Organ Yetmezliği	-	-	-	1 (%2,56)	1 (%4,16)	-
Tümör	-	-	-	2 (%5,12)	1 (%4,16)	1 (%6,6)
Sağlıklı	-	-	-	6 (15,38)	2 (%8,33)	4 (%26,6)

Evde kaç adet sigara içildiğinin sorulduğu soruyla ilgili olarak yapılan analiz sonucunda, içilen sigara miktarının artışıyla doğru orantılı olarak kardiyolojik ve dermatolojik hastalıkların, anlamlı olarak daha sık görüldüğü istatistiki olarak ortaya konmuştur ($p<0,001$, $p<0,05$ sırasıyla). Sistem hastalıkları ile günlük ortalama tüketilen sigara miktarları Şekil 2’de verilmiştir.

Sigara içildikten sonra ne kadar süreyle ortamın havalandırıldığı ile ilgili olarak sorulan sorunun analizi sonucunda ise, ortamın 60 dakika ve üzerinde havalandırılmasına rağmen yine kardiyolojik ve dermatolojik hastalıkların istatistiki olarak anlamlı şekilde daha yüksek görüldüğü tespit edilmiştir (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,05$).



Şekil 2: Sistem hastalıkları ile günlük sigara tüketimi arasındaki oran ve hasta sayıları.

Figure 2: The ratio between the system diseases and daily cigarette consumption and the number of patients.

Tartışma ve Sonuç

Günümüzde kullanım yaşı gittikçe azalan ve günden güne daha çok kişi tarafından tüketilen sigara ve diğer tütün ürünleri, tüketicilerini olumsuz olarak etkilediği gibi bu ürünlerin yanması sonucu oluşan dumana maruz kalan kişiler ve evcil hayvanlar üzerinde de olumsuz etkilere sebep olmaktadır (1, 4, 7, 12, 16). Ülkemizde ve dünyada gerek çocuklar gerekse de ergenlik çağındakiler üzerinde yapılan çevresel sigara dumanı etkileri üzerine çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (2, 4). Ancak literatürde ne yazık ki evcil hayvanlar üzerinde çevresel sigara dumanı etkileri üzerine yapılmış araştırmalar sınırlı sayıdadır.

Randomize olarak yapmış olduğumuz araştırmamızda sigara içilen ortamda yaşayan köpeklerde sağlıklı olanlar tespit edilmemiştir. Roza ve Vieagas'ın (13) yapmış oldukları sigara içilen ve içilmeyen ortamlarda yaşayan köpeklerde yapılan bronko alveolar lavaj ve idrar kotinin düzeylerinin araştırılmasına dayalı çalışmada sigara içilen ortamda yaşayanlarda anlamlı düzeyde idrar kotinin, ve bronko alveolar lavajda makrofaj ve lenfosit miktarlarında artış tespit etmişlerdir. Buna dayanarak çalışmamızda sigara içilen ortamda yaşayan köpekler arasında sağlıklı olanlara rastlanmamış olması tesadüfi olabileceği gibi, Roza ve Vieagas'ın (13) araştırmalarında da olduğu gibi sigara içilen ortamda yaşayan köpeklerin sağlık olmaması durumunun da

göz önünde bulundurulmasının gerekli olduğu düşüncesindeyiz. Maruziyetin düzeyleri ve nikotin metabolitlerinin araştırıldığı kanıta dayalı yapılabilecek bir araştırmada daha doğru sonuçlar alınabilmesi mümkün olabilir.

Çalışmamızda, sigara içilen ortamlarda yaşayan köpeklerde en çok karşılaştığımız hastalıklar kardiyolojik ve dermatolojik hastalıklar olmuştur. Mevcut literatürde kardiyolojik hastalıkların sigara içilen ortamda yaşayan köpeklerde daha sık görüldüğünü ortaya koyan araştırma bulunamamıştır.

Araştırmadaki kardiyolojik hastalıkların görüldüğü köpeklerin ırkları; Alman Çoban Köpeği, Golden Retriever, Boxer, Cocker Spaniel, Rottweiler, Pekingese, Jack Russel, Yorkshire Terrier ve terrier melezleri şeklindedir. Yaş ortalamasının 7,18 olduğu grupta hem büyük hem de küçük ırk köpekler yer almaktadır. Mevcut araştırmalara göre; mitral kapak hastalığı ve dilate kardiyomiopati sıklıkla karşılaşılan edinsel hastalıklardır. İlerleyen yaş ile bu hastalıkların görülme olasılığı artmakla beraber, çevresel sigara dumanına maruz kalınması, insanlarda olduğu gibi (9) köpeklerde de kalp hastalıklarını hazırlayıcı faktörlerden biri olabilir.

Araştırmamızda dermatolojik hastalıkların görüldüğü ırklar; Pekingese, Golden Retriever, Pitbull ve Terrier olarak bulunmuştur. Çalışmada, bu hastaların yaş ortalaması 5,71 olarak belirlenmesiyle birlikte, genelde orta yaşlı hastalardan oluşmaktadır. Sigara içilen

ortamda yaşayan bu köpeklerde bireysel faktörler, yaş ve ırk predispozisyonu göz önünde bulundurulduğunda sigara içilen ortamda yaşıyor olmaları önem arz etmeyeceği gibi, çevresel sigara dumanı, dermatolojik hastalıkların ortaya çıkmasında bir faktör olabilir.

Hasta yakınlarına sorulan bir diğer soruda; evde ne kadar miktarda sigara tüketildiği ile ilgili edinilen bilgiler ışığında, kardiyovasküler ve dermatolojik hastalıklara sigara tüketiminin arttığı evlerde anlamlı düzeyde daha sıklıkla karşılaşıldığı tespit edilmiştir (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,05$). Literatürde çevresel sigara dumanına maruz kalan köpeklerdeki kalp hastalıkları ile ilgili araştırma olmamasına rağmen Law ve ark.'nın 1997'de (9) insanlarda yaptığı araştırmanın sonuçlarına göre çevresel sigara dumanına maruz kalan insanlarda iskemik kalp rahatsızlıklarının görülme olasılığı artmaktadır. Benzer sonuçların çevresel sigara dumanına maruz kalan köpeklerde de görülebileceği görüşündeyiz. Bunun yanında Ka ve ark.'nın (7) yaptıkları çalışmada, yüksek düzeyde sigara dumanına maruz kalan köpeklerde, çevresel sigara dumanına maruz kalmayan köpeklere göre atopik dermatitisin görülme olasılığının daha yüksek olabileceği öne sürülmüştür. Diğer yandan insanlarda saç (16) ve hayvanlarda tüy örneklerinden (8) yapılan nikotin analizleri ile sigara dumanına maruziyet düzeyinin belirlendiği araştırmalar

bulunmaktadır. Knottenbelt ve ark. (8) tüy örneklerinden yaptıkları araştırmada, sigara dumanına maruz kalan köpeklerde nikotin düzeylerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Deri yüzey alanının fazla olması sebebi ile sigara dumanı ile en çok temasta bulunan organ olarak düşünüldüğünde, tüy örneklerinden yapılan çalışmalar (8, 18) da göz önünde bulundurularak, çevresel sigara dumanı, çeşitli dermatolojik hastalıkların ortaya çıkmasının bir sebebi olabilir.

Sigara içildikten sonra ortamın ne kadar süreyle havalandırıldığı sorulduğu sorunun istatistiksel analiz sonuçlarına göre; ortamın 60 dakika ve üzeri havalandırıldığı evlerde yaşayan köpeklerde istatistiki olarak anlamlı şekilde kardiyolojik ve dermatolojik hastalıkların görülme olasılığının, uzun süreli havalandırmaya rağmen yine de yüksek olduğu ortaya konmuştur (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,5$). Beklenen sonuç, havalandırma süresinin artışı ile hastalıkların ortaya çıkmasının ters orantılı olması yönünde iken, istatistik sonuçlarına göre; sigara içilen ortamın havalandırılmasının hastalıkların ortaya çıkmasını azaltacak bir faktör olmadığı görülmektedir. WHO'nun 2009 yılındaki raporunda (17) ve Institute for Health and Consumer Protection (IHCP):Activity Report 2003 yılında (6), sigara içilen alanların içilmeyen alanlardan ayrılması veya ortamın havalandırılmasının çevresel sigara dumanından etkilenmenin düzeyini azaltmadığı belirtilmiştir. Bu

veriler, araştırmamızın sonuçlarını doğrular niteliktedir.

Araştırmamızın sonuçlarına göre; çevresel sigara dumanı köpekler üzerinde de olumsuz etkiler oluşturmakta ve özellikle kalp ve deri hastalıklarının daha sık görülmesinde yadsınamaz bir konuma sahiptir. Sigaranın sağlığa olan zararları ile ilgili olarak yapılacak bilgilendirme toplantıları ve muayene esnasında ve sonrasında hasta yakınlarının evcil hayvanlarının buldukları kapalı ortamlarda sigara içmemeleri yönünde yapılacak uyarılar ile çevresel sigara dumanından köpekleri korumak mümkün olabileceği gibi, sigara tüketiminin de hasta yakınları tarafından azaltılması ve hatta bırakılması yönünde olumlu sonuçlar elde edilebilmesi mümkün olabilecektir.

Bu araştırma sonuçları baz alınarak yapılacak daha kapsamlı bir araştırmada, kardiyolojik veya dermatolojik hastalığı olan ve sigara içilen ortamda yaşayan köpeklerde idrar ve kan örneklerinden nikotin ve kotinin seviyelerinin ölçülmesine dayalı araştırmalar yapılmasının yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

Teşekkür

Bu araştırma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: Bilimsel Etkinliklere Katılım (BEK)-2016- 22765.

Kaynaklar

1. Bertone ER, Snyder LA, Moore AS (2002): *Environmental Tobacco Smoke and Risk of Malignant Lymphoma in Pet Cats*. Am J Epidemiol, **156**, 3.
2. DiFranza JR, Aligne, CA, Weitzman M (2004): *Prenatal and Postnatal Environmental Tobacco Smoke Exposure and Children's Health*. Pediatrics, **113**, 4.
3. Feleszko W, Ruszczyński M, Jaworska J, Strzelak A, Zalewski BM, Kulus, M. (2014): *Environmental tobacco smoke exposure and risk of allergic sensitisation in children: a systematic review and meta-analysis*. Arch Dis Child, **99**, 985–992.
4. Güler N, Güler G, Ulusoy H, Bekar M (2009): *Lise öğrencileri arasında sigara, alkol kullanımı ve intihar düşüncesi sıklığı*. Cumhuriyet Tıp Derg, **31**, 340-345.
5. Häggström J, Pedersen, HD, Kvart C (2004): *New sights into degenerative mitral valve disease in dogs*. Vet Clin N Am-Small, **34** (5): 1209-1226.
6. Activity Report of Institute for Health and Consumer Protection (2004): *EUR Report 21198 EN*, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities 2004. ISBN 92-894-7903-7905.
7. Ka D, Marignac G, Desquilbet L, Freyburger L, Hubert B, Garelik D, Perrot S (2014): *Association between passive smoking and atopic dermatitis in dogs*. Food Chem Toxicol, **66**, 329–333.
8. Knottenbelt CM, Bawazeer S, Hammond J, Mellor D, Watson DG (2012): *Nicotine hair concentrations in dogs exposed to environmental tobacco smoke: a pilot study*. J Small Anim Pract, **53**, 623–626.
9. Law MR, Morris JK, Wald NJ (1997): *Environmental tobacco smoke exposure and ischaemic heart disease: an evaluation of the evidence*. Brit Med J, **315**, 973.
10. Pagani LS (2014): *Environmental tobacco smoke exposure and brain development: The case of attention deficit/hyperactivity disorder*. Neurosci Biobehav R, **44**, 195–205.
11. Reif JS, Dunn K, Ogilvie GK, Harris CK (1992): *Passive Smoking and Canine Lung Cancer Risk*. Am J Epidemiol, **135**, 3.
12. Reif JS, Bruns C, Lower KS (1998): *Cancer of the Nasal Cavity and Paranasal Sinuses and Exposure to Environmental Tobacco Smoke in Pet Dogs*. Am J Epidemiol, **147**, 5.
13. Roza MR, Viegas CAA (2007): *The dog as a passive smoker: Effects of exposure to environmental cigarette smoke on domestic dogs*. Nicotine Tob Res **9**(11): 1171–1176.
14. Simpson S, Edwards J, Emes RD, Cobb MA, Mongan NP, Rutland CS (2015): *A predictive model for canine dilated cardiomyopathy—a meta-analysis of Doberman Pinscher data*. Peer J, **3**, 842.
15. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı (2015): *Türkiye'de Tütün Kontrolü Çalışmaları*. Erişim Adresi: <http://www.veteriner.org.tr/tr/dergi>

saglik.gov.tr/TR/belge/1-15787/turkiyede-tutun-kontrolu-calismalari.html, Erişim Tarihi: 10.10.2016.

16. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health (2010): *How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: A Report of the Surgeon General.* Atlanta, GA.

17. World Health Organisation Report On The Global Tobacco Epidemic. (2009): *Implementing smoke-free environments.* Erişim Adresi: http://who.int/tobacco/mpower/2009/gtcr_download/en/. Erişim Tarihi:12.12.2016.

18. Yang J, Hu Y, Cai JB, Zhu XL, Su QD, Hu YQ, Liang FX (2007) : *Selective hair analysis of nicotine by molecular imprinted solid-phase extraction: An application for evaluating tobacco smoke exposure.* Food Chem Toxicol, **45**, 896-903.

Geliş Tarihi: 8/12/2017 Kabul Tarihi: 2/5/2016

Yazışma Adresi:

Arş. Gör. Dr. Onur İSKEFLİ

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

İç hastalıkları Anabilim Dalı

e-posta: onur.iskefli@istanbul.edu.tr

Bir köpekte serebrokortikal nekroz olgusu

Handan Hilal ARSLAN*, Mustafa Yavuz GÜLBAHAR**, Ayhan GACAR**,
Güvenç GÖKALP*

Öz: Serebrokortikal nekroz (SKN)

beyinin serebrokortikal gri maddesini etkileyen yangısal olmayan ensefalopatiyle karakterizedir. Bu olgu sunumunda kliniğimize şiddetli tonik-klonik kasılmalar ve bilinç kaybı semptomlarıyla getirilen 5 aylık Golden Retriever ırkı dişi bir köpekte tespit edilen SKN tablosu değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler: Beyin, köpek, polimalazi, serebrokortikal nekroz

Cerebrocortical necrose in a Dog

Abstract: Cerebrocortical necrose (CCN) is characterized by a non-inflammatory encephalopathy affecting mainly the cerebrocortical grey matter. In this case report, CCN status was evaluated in a CCN detected 5-month-old female Golden Retriever puppy, which was brought to our clinic with severe tonic-clonic convulsions and phrenitis symptoms.

Keywords: Brain, cerebrocortical dog, necrosis, poliomalacia

Giriş

Merkezi sinir sistemi (MSS) hastalıkları çoğunlukla sistemik hastalıklardır ve hastalarda genelde sinirsel belirtiler dışında bulgu yoktur. Farklı yangısal hastalıklar sinir sisteminin çeşitli bölgelerini etkilediği için ortaya çıkan sinirsel semptomlarda da farklılıklar saptanabilmektedir. MSS hastalıklarının %13'ünde generalize ya da fokal nöbetler ortaya çıkmaktadır (13). Ancak nöropatolojik değişikliklerin şekillendiği beyin bölgesi ile nöbetler ve beyin hasarı arasında diagnostik bir ilişki kurmak oldukça güçtür (12).

Serebrokortikal nekroz (SKN), orijinal olarak poliensefalomalazi olarak adlandırılmış olup aynı zamanda laminal kortikal nekrozis olarak da bilinmektedir (7). Polioensefalomalazi idiyopatik bir durum olarak tanımlanmıştır ve kurşun zehirlenmesi, siyanür zehirlenmesi, tiamin eksikliği,

* Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun

** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Samsun

kardiyak arrest ve kraniyal travma ile ilişkili olabileceği saptanmıştır (2).

Bu olgu sunumunda kliniğe şiddetli tonik-klonik kasılma tablosuyla getirilen beş aylık dişi bir Golden Retriever ırkı köpekte nekropsi sonucu tespit edilen serebrokortikal nekroz değerlendirilmiştir.

Olgunun Tanımı

Olguyu beş aylık, dişi, Golden Retriever ırkı köpek oluşturdu. Kimlik kartına göre karma ve kuduz aşılarının prosedüre uygun olarak yapılmış olduğu saptandı.

Hastada iki gün önce gün ortasında, herhangi bir çevre değişkeni olmaksızın, aniden bilinç kaybı ile beraber seyreden tonik ve klonik kasılmalar şekillenmeye başladığı bildirildi. Hasta ilk olarak özel bir veteriner kliniğinde zehirlenmeye yönelik tedavi görmüş ancak durumunda herhangi bir iyileşme şekillenmemiştir. Ayrıntılı anamnez bilgisi alınmasına karşın zehirlenmeyi ve travmayı işaret edecek bir veri elde edilemedi. Hayvanın içerisinde makarna ve sebze ilaveleri de olan ev yemekleri ile beslendiği ve zaman zaman market maması ile desteklendiği öğrenildi. Ev ortamında barındırılmakta ve bakım besleme ihtiyaçları tek kişi tarafından karşılanmaktaydı. Köpeğe düzenli olarak iç (Praziquantel 50 mg/ Pyrantel pamoate 140 mg/ Oxantelpamoate 545 mg, 42 günde bir) ve

dış parazitlere karşı (Fipronil, %10 w/v, 1.34 ml, 60 günde bir) ilaç uygulaması yapıldığı bilgisi alındı.

Hasta kliniğe getirildiğinde kısa aralıklı nöbetler şeklinde seyreden çok şiddetli tonik-klonik kasılmalar, opistotonus ve ağızda köpürme şekillendiği gözlemlendi. Hayvanda bilinç kaybı ve inleme mevcuttu. Vücut ısısı ilk ölçümde 40.2 °C tespit edildi. Mukozalar solgun olmasına karşın ikterik görünüm saptanmadı. Tam kan analizinde (BC-2800 Vet, Mindray, China) total lökosit (WBC) ($19.9 \times 10^9/L$) ve granülosit sayısında ($16.5 \times 10^9/L$) artış, eritrosit sayısında azalma ($4.01 \times 10^{12}/L$), hematokrit değerinde düşme (%27.5), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) konsantrasyonunda artış (36.1 pg) tespit edildi.

Hayvan Kanin Distemper enfeksiyonu yönünden konvensiyonel PCR metodu ile antijen ve ELISA metodu ile IgM antikoru yönünden kontrol edildi (EVL Diagnostic, The Netherlands). Hastadan alınan kandan elde edilen serumda Distemper IgM antikoru açısından negatiflik tespit edildi. Konvensiyonel PCR yönteminde PF 5' ATG TTT ATG ATC ACA GCG G-3' ve PR 5' AAA TTA TAT ACG TAA ATA AC 3' primerleri kullanıldı. Yapılan kontrolde örnek Distemper

açısından pozitifliği işaret edecek 429 bp yönünden de negatif bulundu.

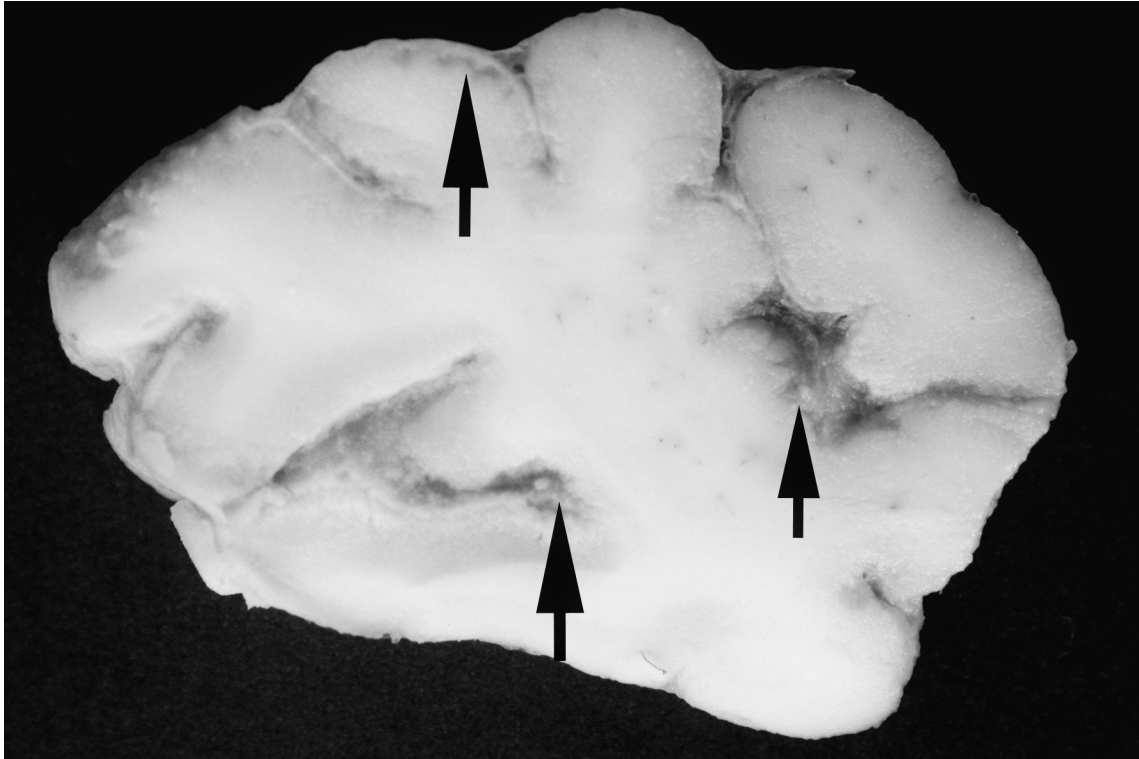
Köpeğe geniş spektrumlu bir antibiyotik grubu olarak Trimethoprim/Sülfadimetilprimidin 40 mg-200 mg (15 mg/kg) tedavisi uygulandı. Yüksek vücut ısısını kontrol altına almak amacıyla ilk olarak Metamizol sodyum (25 mg/kg), ertesi gün Flunixin meglumin (1 mg/kg) denendi ve bunlara ek olarak soğuk kompres uygulaması yapıldı. Ancak vücut ısısında ciddi bir değişim sağlanamadı. Hastada anoreksi şekillenmiş olduğu için destek tedavisi amacıyla damar içi yolla laktatlı ringer solüsyonu, buna ek olarak B vitamin kompleksi, K ve C vitaminleri verildi. Hastaya tedavinin 3. günü damar içi yolla diazepam (0.2 mg/kg) uygulandı. Bu sırada Kanin Distemper yönünden negatif olduğu öğrenildi. Hastada tedavinin dördüncü gününde ilk getirildiği güne göre kasılmaların azalması ve zaman zaman bilinçli hareketler yapma eğiliminde olmasına karşın ciddi bir ilerleme kaydedilemedi. Klinik belirtiler meningitis tablosuna işaret ettiği için tedavinin devamında farklı bir antibiyotik seçimi yapıldı. Beyin omurilik sıvısına yüksek oranda geçebilme yeteneği nedeniyle seftriakson (50 mg/kg) kullanıldı. Evde meydana gelebilecek nöbetleri kontrol altına alabilmek için valproik asit içeren preparat

(75 mg/kg) önerildi. Yapılan tedavi sonucu hastanın kasılma nöbetleri kontrol altına alındı, vücut ısısı normal sınırlara indi (38.0 °C), bilinç açık hale geldi. Ancak hastada vücut koordinasyonunu sağlamaya yönelik tam iyileşme sağlanamadı. Yapılan nörolojik muayenede bilinç-duyu iletiminin olmaması hastalık semptomlarının irreversible olduğunu gösterdi ve köpeğin daha fazla acı çekmemesi amacıyla hasta sahibinin rızasıyla ötenazi uygulandı.

Köpeğe sistematik nekropsi uygulandı. Alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formalinde tespit edildikten sonra, rutin işlemlerden geçirilerek parafine bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoxilen-eozin (HE) ve luxol fast blue ile boyandı. Nekropside karaciğer şişkin, kenarları kütleşmiş ve kesit yüzünden kan sızdığı gözlenmekteydi. Böbrekler solgun renkte, dalak hafif şişkin ve hiperemikti. Göğüs boşluğunda akciğerlerin iyi kollabe olmadığı ve kranial loblarda hiperemi gözlendi. Kranium açıldığında beyin damarlarının hiperemik olduğu dikkat çekti. Beyinin sadece kesit yüzünden seçilebilen ve özellikle oksipital ve temporal bölgeler başta olmak üzere kortekste gri maddede (substantisya griseada) solgun sarımsı renkte fokal erime alanları gözlendi

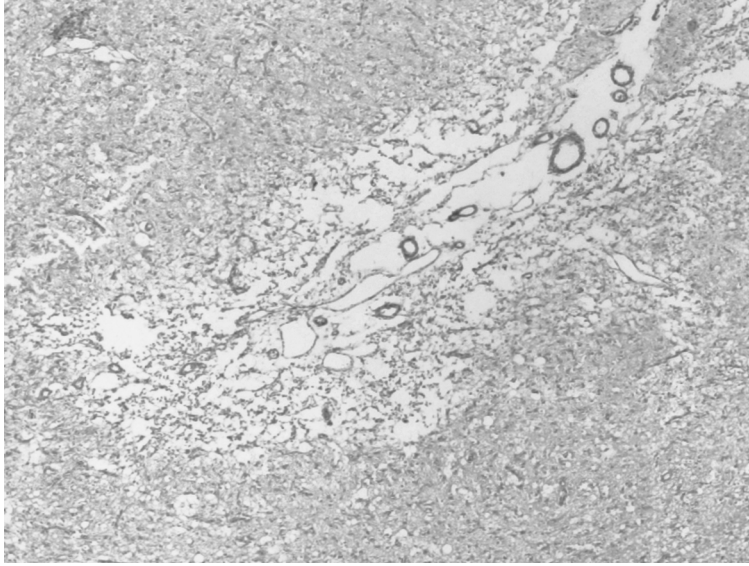
(Şekil 1). Beyincik ve medulla spinalis normal görünümdeydi. Mikroskopik incelemede, beyinde gri maddede genelde sulkusların derin bölgelerinde yerleşimli, değişen büyüklüklerde erime alanları mevcuttu. Bu alanlar fibriler görünümdeydi ve çok sayıda gitter hücresi, makrofaj ve gemistositik astrosit içermektedir (Şekil 2 ve 3). Bu alanlara komşu bölgelerde spongiotik değişiklikler ve fokal gliozis ile

nöronların koyu çekirdekli ve büzüşmüş oldukları dikkati çekti. Erime alanlarına yakın leptomeninksler kalınlaşmış yapıda yer yer kollabeydi ve az sayıda mononükleer hücre içermektedir. Serebellumda birçok alanda purkinje hücre kayıpları saptandı (Şekil 4). Medulla spinaliste herhangi bir lezyona rastlanmadı. Karaciğerde dejeneratif değişikliklerle birlikte diffuz yağlanma ve



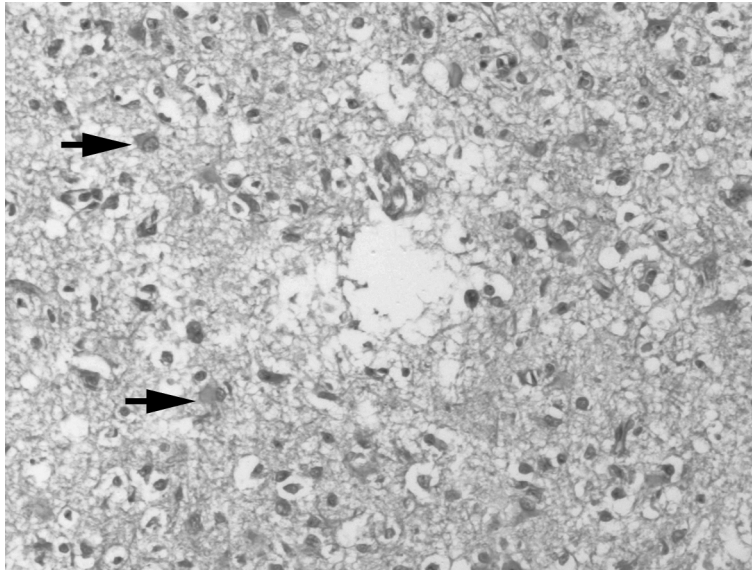
Şekil 1: Beyinin oksipital bölümünde gri maddede fokal erime alanları (Formalin fikzasyonundan sonra alındı)

Figure 1: Focal malacic areas in gray matter of the occipital part of brain (After formalin fixation)



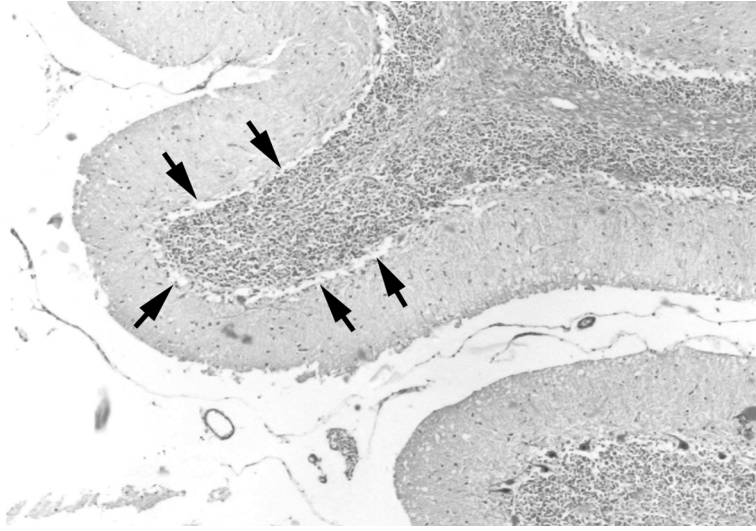
Şekil 2: Piamaterin hemen altında gri maddenin fibriler görünümü, HE, 60x

Figure 2: Gray matter subpial area with fibrillary appearance, HE, 60x



Şekil 3: Çok sayıda gitter hücresi, makrofaj ve gemistositik astrosit (oklar) içeren alanlar, HE, 60x

Figure 3: Numerous gitter cells, macrophages and gemistocytic astrocytes (arrows), HE, 60x



Şekil 4: Serebellumda purkinje hücre kayıpları, HE, 60x

Figure 4: The loss of Purkinje cell in cerebellum, HE, 60x

pasif konjesyon dikkati çetti. Böbrekte ise çoğu kortikal tubuluslarda kistik dilatasyonlar, jukstamedullar alanlardaki tubuluslarda hyalin silindirler ve tubulus epitellerinde dejeneratif değişiklikler saptandı. Akciğerde fokal intersitisyel pnömoni ve amfizematöz alanlara rastlandı.

Tartışma ve Sonuç

SKN temelde beyinin serebro kortikal gri maddesini etkileyen yangısal olmayan ensefalopatiyle karakterizedir (4). Doğal malazi çok farklı sekonder etiyolojik nedenlerden dolayı meydana gelebilir (8). Oluşumunda spesifik bir neden olmamasına rağmen, malazi lezyonlarının lokalizasyonu ve sinir dokudaki dağılım şekli spesifiktir. SKN'nin şekillenme süreci özellikle fötal ve genç sinir sisteminde oldukça hızlıdır.

Beynin gri maddesindeki değişim hızı beyaz maddeye göre çok daha fazladır (10). Bildirilen olguyu da 5 aylık yavru bir köpek oluşturmuştur. Makroskobik bakıda kortekste, özellikle oksipital ve temporal bölgelerde, beyinin sadece kesit yüzünden seçilebilen, gri maddede solgun, sarımsı renkte, fokal erime alanları gözlenmesi Mariani ve ark. (8) tarafından serebrokortikal nekroz tespit edilen hastanın bulgularıyla tamamen uyumlu bulunmuştur.

Köpeklerde merkezi sinir sisteminde nedeni hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamış yangısal hastalıklar da bulunmaktadır. Pug, Maltase, Pekingese ve Chihuahua ırkı köpeklerde beyin dokuda idiyomatik nekrotik bozukluklar rapor edilmiştir ve etiyolojisi hala bilinmemektedir (3,5,6).

Braund ve Vandeveld (2), SKN tespit ettikleri 25 köpeğin beşinde nedenin köpeklerin gençlik hastalığı olduğunu bildirmişlerdir. Bu olguda hasta kliniğe ilk getirildiğinde tespit edilen sistemik ve nörolojik klinik bulgular köpeklerin gençlik hastalığını akla getirmiş ancak yapılan laboratuvar incelemesinde negatif bulunmuştur. Ayrıca beyinin mikroskopik bakışında da köpeklerin gençlik hastalığına yönelik bulgu gözlenmemiştir.

Mariani ve ark., (8), serebrokortikal nekroz tespit ettikleri köpekte klinik belirtileri günde 2-3 defa ortaya çıkan generalize, tonik-klonik kasılmalarla karakterize nöbetler ve bilinç kaybı olarak tanımlanmıştır. Köpeğin rektal ısısının 40.3 °C'ye çıktığını ve orta derecede dehidrasyon bulunduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte SKN'li köpeklerde klinik olarak şiddetli kas zayıflığı, sürekli yatma hali, opistotonus, koma ve ölüm de bildirilen bulgular arasındadır (1). Hastalık anoreksi ve su alımının durmasına da neden olmaktadır (7). Sunulan bu olguda da bildirimlere uygun olarak hastada kliniğe ilk getirildiğinde şiddetli tonik-klonik kasılmalarla karakterize nöbetler ve bilinç kaybı olduğu, ayakta duramama nedeniyle yatar pozisyonda olduğu ve opistotonus şekillendiği tespit edilmiştir. Klinik muayenede hastada anoreksiye bağlı dehidrasyon ve yüksek vücut ısısı saptanmıştır.

Uygulanan tedavi ile kasılmalar ve vücut sıcaklığı kontrol altına alınabilmiştir.

Klinik olarak benzer semptomları olan serebellar kortikal abiotrofi de Golden Retriever ırkı köpeklerde rapor edilmiş idiopatik özellikte bir hastalıktır. Serebellar kortikal abiotrofi purkinje hücre kaybı ve beyinde malazi odaklarının şekillenmesi yönünden SKN'ye benzerlik göstermektedir. Ancak özellikle dejeneratif değişikliklerin beyinin beyaz maddesinde şekillenmesi ve serebellumun normalden küçük olması ile karakterizedir (1). Bu olguda ise purkinje hücre kaybı görülmekle birlikte lezyonlarının büyük oranda beyinin gri maddesinde şekillenmiş olması ve serebellumun normal büyüklükte olması ile ayırım yapılmıştır. Ayrıca hastada idiopatik epilepsi olasılığı hasta altı aylıktan küçük olduğu için elenmiştir. Bilindiği gibi idiopatik epilepsi sıklıkla altı ay ile altı yaş arasında görülen bir hastalık tablosu oluşturmaktadır (11).

Tiamin yetersizliği SKN oluşumunda oldukça önemli bir nedendir. Kedi ve köpeklerin büyük miktarlarda tiamin sentezleme yeteneği olmadığından vitaminin yetersizliğinden kolaylıkla etkilenebilirler. Bu nedenle, kedi ve köpeklerin düzenli olarak gıdalarıyla tiamin alması gerekmektedir. Diğer yandan kedi ve köpek gıdalarının hazırlanma sürecinde

tiaminin yapısı kolaylıkla bozulabilir. Özellikle otoklavlanarak hazırlanmış ticari mamaların tüketilmesi tiamin yetersizliğinin önemli nedenlerindedir (9). Ayrıca 100 °C ve üstü ısı uygulamalarında tiaminin yapısı bozulmakta ve yararlanılamaz hale gelmektedir (10). Anamnezde olguda bildiriminde sunulan köpeğin ev yapımı yemeklerle beslenmekte olduğu ve diyetinin market mamaları ile desteklendiği öğrenildi. Ev yemeklerinin hazırlanmasında geleneksel olarak 100 °C'nin üstünde ısı uygulamasının yapıldığı göz önünde bulundurulduğunda hastamızda gıdalarla uzun süre yetersiz tiamin alımı sonucu SKN şekillenmiş olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak, şiddetli tonik-klonik kasılmalar, bilinç kaybıyla seyreden nöbetler şikayetiyle getirilen Golden Retriever ırkı köpekte histopatolojik inceleme sonucunda serebrokortikal nekroz şekillendiği tespit edilmiştir.

Sinir sistemi semptomları, özellikle epileptoik karakterli kasılmalar ve bilinç kaybı ile veteriner kliniklerine başvuran altı aydan küçük köpeklerde gençlik hastalığı ve karaciğere bağlı metabolik bozukluklar elendikten sonra serebro kortikal nekroz oluşumu dikkatle göz önünde bulundurulması gereken önemli bir klinik hastalık tablosudur.

Teşekkür

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Zafer YAZICI'ya teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Braund KG** (2010): *Degenerative disorders of the central nervous system*. 1-53. In: KG Braund (Ed), *Clinical Neurology in Small Animals: Localization, Diagnosis and Treatment*. USA. www.ivis.org. Document No. B0200.0103.
- Braund KG, Vandeveld M** (1979): *Polioencephalomalacia in the dog*. *Vet Pathol*, **16(6)**: 661-672.
- Cordya DR, Holliday TA** (1989): *A necrotizing meningoencephalitis of Pug dogs*. *Vet Pathol*, **26**, 191-194.
- Hartley WJ** (1963): *Polioencephalomalacia in dogs*. *Acta Neuropathol*, **2(3)**: 271-281.
- Higgins RJ, Dickinson PJ, Kube SA, Moore PF, Couto SS, Vernau KM, Sturges BK, Lecouteur RA** (2008): *Necrotizing meningoencephalitis in five Chihuahua dogs*. *Vet Pathol*, **45(3)**: 336-346.
- Lezmi S, Toussaint Y, Prata D, Lejeune T, Ferreira-Neves P, Rakotovao F, Fontaine JJ, Marchal T, Cordonnier N** (2007): *Severe necrotizing encephalitis in a Yorkshire terrier*:

topographic and immunohistochemical study. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med, **54(4)**: 186-190.

7. Loew FM, Radostits M, Dunlop RH (1969): *Polioencephalomalacia (Cerebrocortical Necrosis) developments in veterinary science.* Can Vet Jour, **10(2)**: 54-56.

8. Mariani CL, Platt SR, Newell SM, Terrell SP, Chrisman CL, Clemmons RM (2001): *Magnetic resonance imaging of cerebral cortical necrosis (polioencephalomalacia) in a dog.* Vet Radiol Ultrasound, **42(6)**: 524-531.

9. Markovich JE, Heinze CR, Freeman LM (2013): *Thiamine deficiency in dogs and cats.* J Am Vet Med Assoc, **243(5)**: 649-656.

10. Maxie MG, Youssef S (2007): *Nervous system.* 349-357. In: MG Maxie (Ed), Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. 5th ed. Elsevier, Edinburg, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto.

11. Packer RM, Volk HA (2015): *Epilepsy beyond seizures: a review of the impact of epilepsy and its comorbidities on health-related quality of life in dogs.* Vet Rec, **177(12)**: 306-315.

12. Summers BA, Cummings JF, Lahunta A (1995): *Degenerative diseases of central nervous system.* 244-280. In: L Duncon (Ed), Veterinary Neuropathology. Mosby, St

Louis, Baltimore, Berlin, Boston, Carlsbad, Chicago, London, Madrid, Naples, New York, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto.

13. Thomas WB (1998): *Inflammatory diseases of the central nervous system in dogs.* Clin Tech Small Anim Pract, **13(3)**: 167-178.

Geliş Tarihi: 8/12/2016 Kabul tarihi: 3/01/2017

Yazışma adresi:

Doç. Dr. Handan Hilal YAVUZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
55139 Kurupelit/ Samsun,
e-mail: hharslan@omu.edu.tr,
Tel: 03623121919-1231

Hayvanlarda mikrobiyom - hayvan mikrobiyomu

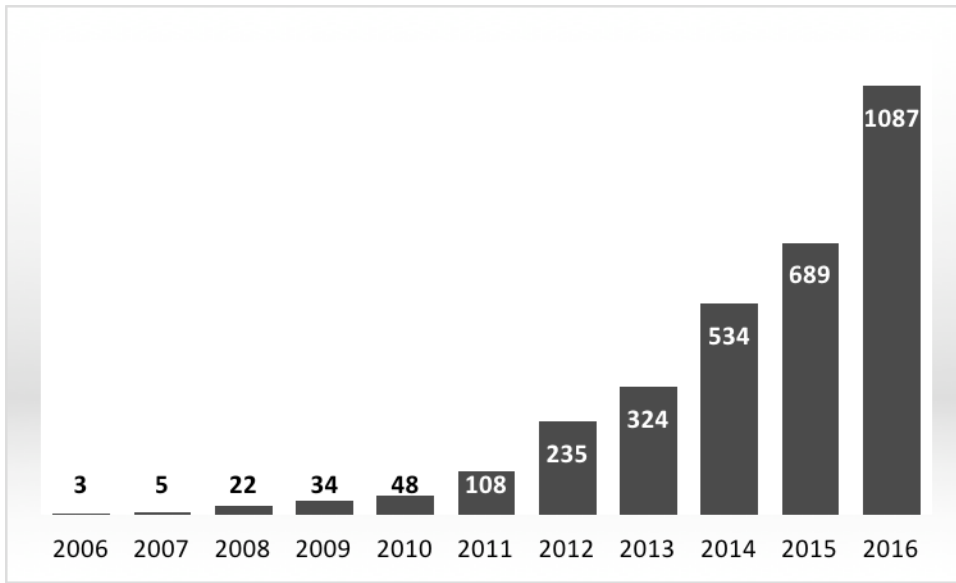
K. Serdar DİKER*

Giriş

Hayvanlar çoğu fizyolojik sistemlerinde çeşitli mikrobiyal topluluklar barındırırlar. Hayvanların genel durumları ve sağlıkları ile yakından ilişkili olan bu topluluklara yakın zamana kadar mikrobiyal flora veya bakteri florası denmekteydi. Aslında flora bitkileri ifade eden bir terim olduğu için, bunun bakterileri tanımlamak için kullanılması uygun değildi. Son yıllarda bu terimin yerine, yani, bir yerin veya ekolojik ünitenin toplam mikrop popülasyonunu belirtmek için mikrobiyata, bunların tüm genetik içeriklerini tanımlamak için ise mikrobiyom terimi kullanılmaya başlandı. Bununla birlikte bir yerin tüm mikrop topluluğunu yani mikrobiyatayı ortaya çıkarmak için moleküler genetik yöntemler kullanıldığı ve mikroplar genetik yapıları ile tanımlandığı için, mikrobiyata yerine de mikrobiyom tercih edilmeye başlandı. Bu derlemede de bir mikrop topluluğunu belirtmek için mikrobiyom terimi kullanılacaktır.

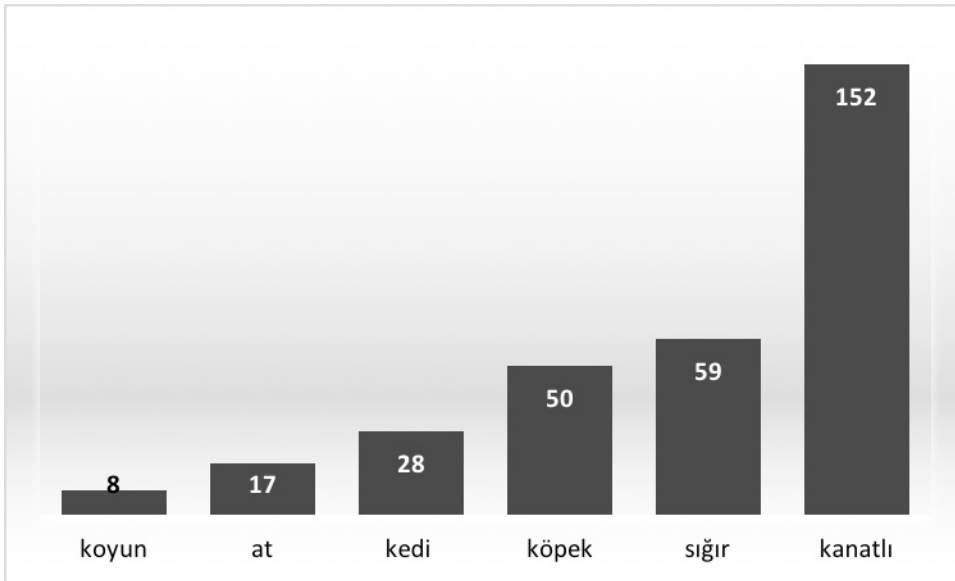
Mikrobiyom terimi, zaten yeni teknolojilerin kullanılmaya başlanmasından, dolayısıyla mikrop topluluğunun gen içeriklerine göre tanımlama yapılmaya başlanmasından sonra türeyen bir sözcüktür. Mikrobiyom sözcüğü ilk kez 2006 yılında üç makalede başlık olarak kullanılırken, bu sayı 2016 yılında 1087'ye ulaşmıştır (Şekil 1). ABD'de NIH/NHGRI (Ulusal Sağlık/İnsan Genom Araştırma Enstitüsü) tarafından 2008 yılında başlatılan "insan mikrobiyom projesi" ve kısa süre sonra Avrupa'da başlatılan "insan bağırsağı metagenomiği" (MetaHIT) projesi konunun önemini göstermesi bakımından anlamlıdır. Aslında özellikle rumen ve bağırsak florasının incelendiği çalışmalar nedeniyle veteriner hekimlikte aynı kapsamdaki araştırmaların geçmişi daha köklüdür. Ancak, mikrobiyom terimi ile yayınlanan makalelerin literatürde görülmesi nispeten yenidir ve başta kanatlılar olmak üzere çeşitli evcil ve yabanıl hayvan türlerini kapsamaktadır (2,5,6) (Şekil 2).

* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji AD., Ankara, Türkiye.



Şekil 1: “PubMed” arama sayfasının “başlık” alanında “microbiome” sözcüğü ile yapılan taramada çıkan makale sayılarının yıllara göre dağılımı.

Figure 1: Distribution of the number of articles by year using the keyword “microbiome” in PubMed search page



Şekil 2: “PubMed” arama sayfasında “microbiome” sözcüğü ve ilgili hayvan adı ile yapılan taramada türe göre çıkan makale sayıları (sığır rumeni ile ilgili çalışmalar dışlanmıştır).

Figure 2: Distribution of the number of articles by species using the keyword: “microbiome” in PubMed search page (Studies related with cattle rumen were excluded).

Mikrobiyom ile ilgili çalışmalar iki açıdan önem taşımaktadır:

1) Mikrobiyom ile genelde konak ve özel olarak sağlık arasındaki ilişki bakımından

2) Mikrobiyomun her yönünü ortaya koyabilen yeni teknolojiler bakımından.

Mikrobiyom teknolojileri (saptama yöntemleri): Bir organı, sistemi veya belirli bir ortamdaki mikroorganizma topluluğunu yani mikrobiyatayı saptamanın en eski ve bilinen yolu klasik bakteriyolojik kültürdür. Bunda teknikte özetle, incelenecek örnek bakterilerin çoğalabileceği yapay besiyerlerine ekilir, üreyen koloniler çeşitli fenotipik ve biyokimyasal özellikleri yönünden test edilir ve gerekirse daha ileri testlere tabi tutulur. Bu şekilde anlatıldığında basit bir işlem gibi görünen bu yol belki de klasik mikrobiyoloji alanında yapılabilecek en zor iş olacaktır. Çünkü, örneğin dışkı veya sekum gibi içinde en az 10^{12} bakteri bulunan bir ortamın mikrop içeriğini bulmaya kalktığımızda, karşımızda ilk aşamada üretmemiz gereken yüzlerce takson olacaktır. (takson: herhangi bir taksonomik düzeydeki bakteri grubu; örn. Firmicutes filumu veya Clostridium cinsi). Bu kadar yoğun ve karışık bir popülasyondaki üyelerin herbirini tek tek ayırt etmenin çeşitli zorlukları vardır. Öncelikle, her bakteri grubunun kendisine has üreme gereksinimleri vardır; her bakteri her besiyerinde ve ortamda üremez. Bu nedenle dışkı gibi bir örnekteki tüm bakteriler izole edilmeye kalkıldığında

en az yüzlerce ve çok özel besiyerlerinin kullanılması gerekir. Sadece bunların aynı zamanda hazırlanması onlarca kişilik iş gücü, uzun zaman ve çok özel malzeme gerektirir. Ayrıca, doğal ortamlarında çok özel atmosferik koşullarda buldukları için, bu bakterilerin çoğunu üretmek için çok çeşitli özel koşulların sağlanması, dolayısıyla fiziksel kapasite gerektirecektir. Tüm bu işlemler yapıldıktan sonra farklı ortamlarda üreyen binlerce hatta onbinlerce koloninin çok ayrıntılı olarak incelenmesi onlarca ekip tarafından yapılsa bile aylarca sürecektir. Bu kadar uzun sürede harcanan bu kadar yoğun emeğe karşın yapılan işlemlerin çok önemli üç eksiği olacaktır. Birincisi, birçok taksonu üretmek için zenginleştirme işlemi gerekeceğinden bunların sayısal veya oransal değerlendirmesi yapılamayacaktır. İkincisi, yoğun üreyen bakterilerin baskılaması veya örtmesi nedeniyle az ve zayıf üreyen çoğu bakteri gözden kaçabilecektir. Üçüncüsü ve en önemlisi, in vitro ortamda üreyemeyen bakteri taksonlarını bu yolla saptamak hiç bir zaman mümkün olmayacaktır.

Taksonomik tanımlamada diğer bir yol bakterileri bizzat üretmek yerine onlara özel olan genetik yapıyı göstermektir. Bilindiği gibi her bir bakteri taksonunun kendisine özel genetik yapısı dolayısıyla DNA dizileri vardır. Karışık bir ortamdaki bakteriler bu yolla tespit edilmeye çalışıldığında PCR (zincirleme polimeraz reaksiyonu) adı verilen moleküler

bir teknik kullanılır. Bunda ortamdaki tüm bakterilerin DNA'sı çıkartıldıktan sonra, sadece aranan mikroba ait gende bulunan özel DNA dizisi kalıp olarak kullanılarak, ortamda bulunan eşleşmiş DNA dizileri enzimatik yolla çoğaltılır. Bunlar özel işaretli maddeler ile gerçek zamanlı olarak tespit edildiğinde, aranan bakterinin varlığı ve yaklaşık miktarı ortaya çıkar. Gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) olarak bilinen bu yöntem zaman ve emek bakımından büyük avantaj sağlamasına karşın çok önemli bir eksikliği mevcuttur. Reaksiyon ortamı ile ilgili kısıtlama nedeniyle sadece az sayıda kalıp kullanılabildiğinden, bu teknikle ortamdaki bakterilerin tümü değil, sadece özel olarak aranan birkaç bakteri taksonu belirlenebilecektir.

Her tür ortamda mikrobiyomu saptamanın en son ve gelişmiş yolu ise yeni nesil sekans verilerinin metagenomik analizidir. Bu amaçla kullanılan farklı birkaç teknoloji olmasına rağmen bunların yaklaşımı genelde bakterilerin parmak izi sayılabilecek genlerinden kısa DNA dizilerinin PCR gibi bir yöntemle çoğaltılması, işaretlenmesi ve bazların çok hassas şekilde okunmasıdır (5). Örneğin, IonTorrent sistemi 150-200 baz uzunluğundaki DNA parçalarında bazlar arası hidrojen iyon konsantrasyonunu ölçer. Bu amaçla kullanılan başlıca gen ise yaklaşık 1650 baz uzunluğundaki 16S rRNA genidir. Çünkü tüm bakteri taksonları için ortak diziler ve değişken bölgeler barındıran bu gen

bakteriler arasındaki filogenetik yani atasal ilişkiyi gösterir. Aslında modern taksonomide dolayısıyla bakterilerin adlandırılmasında kullanılan en önemli kriter 16S rRNA genleri arasındaki benzerlik düzeyidir. Bu gen içindeki 6 değişken bölgenin DNA dizileri karşılaştırıldığında, tüm cinsleri, türleri hatta alt tipleri ayırt etmek mümkündür. Bu sistemin son ve en önemli aşaması ise milyonlarca DNA parçasının okunması ile elde edilen bilgilerin metagenomik analizle birleştirilmesi ve değerlendirilmesidir. Elde edilen diziler gen bankalarındaki bilgiler ile karşılaştırılarak incelenen dizinin hangi bakteriye ait olduğu bulunur. O dizi toplam kaç kere okunduysa, bu da o bakterinin toplam sayısını ve tüm mikrobiyom içindeki oranını verir. Okunacak DNA parçasının minimal okuma sayısı ve uzunluğu gibi limitler konularak metagenomik analizin güvenilirliği artırılabilir. Örneğin; 150 bazdan kısa parçaların okunmaması veya aynı dizinin en az 10 kez okunması gibi eşik değerler belirlenebilir. Bu yüzden bu teknoloji her türlü hatta en kompleks ortamlardaki mikrobiyomu tam ve kesin olarak belirlemek için en güvenilir yoldur. Bu teknikle mikrobiyomun en karışık ve yoğun olduğu bağırsakta 5 milyon toplam okuma içinde %99.8 kesinlikle 1000'den fazla bakteri taksonu bulunabilir ve sadece 10 adet bulunan bir tür belirlenebilir. 16S metagenomik analizin en önemli avantajlarından birisi ise in vitro ortamda

izole edilemeyen bakterileri bile göstermesidir (11). Ayrıca, aynı anda birkaç farklı örneğin mikrobiyomunun incelenebildiği sistemde toplam analiz 3 gün gibi kısa bir sürede bitmektedir. İşte mikrobiyomun bu kadar ayrıntılı ve sıkça çalışılmasını ve popüler bir konu haline gelmesini sağlayan aslında bu teknolojidir. Bu teknolojiye sahip olduğunda yapılacak işlem ise, incelenecek hedef popülasyonun ve organın belirlenmesi, karşılaştırılacak hayvan gruplarının ve kontrol gruplarının seçilmesi ve örneklerin toplanmasıdır. Toplanan örneklerdeki orijinal mikrop kompozisyonunun değişmemesi için örnekler alındıktan sonra dakikalar içinde dondurulmalı veya hemen işlenmelidir. Ayrıca örnek toplarken göz önünde bulundurulması gereken noktalardan birisi örneğin hedef yönelik olarak popülasyonu temsil ediyor olmasıdır.

Mikrobiyom sağlık ilişkisi: Farklı hayvan türlerinde farklı mikrop popülasyonları bulunabilir veya hayvanlardaki mikrop toplulukları çevrelerinden farklılık gösterebilir (4). Ayrıca bu farklılık aynı türün bireyleri veya genotipleri arasında ve hayvanın zaman içindeki gelişim dönemlerinde de görülebilmektedir.

Mikrobiyomun kompozisyonu ve fonksiyonu hayvan sağlığı ve hastalıklarında önemli bir rol oynar. Bu yüzden son zamanlarda araştırmalar, bu toplulukları şekillendiren ekolojik güçlerin belirlenmesine

yoğunlaşmıştır. Bağırsaktaki toplam bakteri sayısı, vücudun tüm hücrelerinden fazladır. Bağırsak mikrobiyomu (mikrobiyata) olarak ta adlandırılan bu topluluk, sadece kendisine bir yaşam alanı bulmakla kalmaz, konağın metabolik ve enerji homeostazından bağımsızlığa kadar birçok fizyolojik olaya katkı sağlar.

Son yıllarda yapılan çalışmalar mikrobiyomun bağımsızlık üzerindeki etkisinin ortamdaki bakterilerin kullanımı metabolizma ile ilişkili olduğunu göstermiştir (8, 9). Hayvan bağırsağı immun yanıtı düzenleyebilecek özellikte çeşitli metabolitler bulundurur. Bağırsak mikrobiyomu bu özellikteki çok sayıdaki küçük moleküllü sentezleyerek, parçalayarak veya düzenleyerek konağın metabolik kapasitesini tamamlar. Mikrobiyom konağın kendi kapasitesi ile metabolize edemediği kompleks besin maddelerini parçalar ve kullanılabilir hale getirir. Ayrıca mikrobiyom primer metabolitlerin üretilmesini ve sekonder metabolitlerin düzenlenmesini sağlar. Yağ asitleri, vitaminler, nöroaktif metabolitler ve amino asitler gibi bu tip mikrobiyal metabolitler doğrudan epitel homeostazı, immun sistem hücrelerinin üretimi ve gıda sindirimini nörolojik kontrolü gibi konağın normal fizyolojisi ile ilişkilidir.

Çeşitli çalışmalarda sağlıklılar ile hastalar arasında yoğunluk bakımından farklılık gösteren çeşitli metabolitler saptanmıştır. Bunlardan bazıları, örneğin indoller ve

kısa zincirli yağ asitleri hastalıklardan koruyucu etki gösterirken, bazılarının ise, örneğin trimetilamin 4-oksit (TMAO) ve 4-etilfenilsülfat (4-EPS) hastalığa duyarlılığı doğrudan arttırdığı bulunmuştur (8).

İmmun sistem ve mikrobiyota konağın fizyolojisini dengede tutmak ve kalıcı bir populasyon oluşturmak için sürekli etkileşim halindedirler. Hayvanlar mikropların varlığını ve faaliyetlerini doğal yapılarında bulunan mikrop sensörleri vasıtasıyla algılar. “Desen tanıyan reseptörler” (DTR) olarak bilinen bu reseptörle mikroplara ait aktif molekülleri ve dolayısıyla mikropları nonspesifik olarak tanırlar. Konağın immün sistemi ile mikrobiyomun metabolitleri arasında kurulan ilişki çeşitli hücre tiplerini kapsar (7). Klasik olarak immün sistemin parçası olarak bilinmemelerine rağmen epitel hücreleri bunların başında gelir. Bağırsak epitel hücreleri doğal DTR'lere sahiptirler, ve bu bakımdan mukozal bağışıklık sisteminin bir parçası olarak bağırsak homeostazına katkıda bulunurlar. Epitel hücrelerinin sağladığı bu denge bağırsakta sağlıklı bir mikrop topluluğunun kalıcı olmasını sağlarken patojenlerin yerleşmesini engeller. Epitel hücreleri bu işlevleri sırasında lokal miyeloid ve lenfoid hücreler ile yoğun bir iletişime girer ve çok çeşitli antimikrobiyal mekanizmalar kullanırlar.

Mikrobiyata bağırsaktaki olumlu etkisini daha çok kısa zincirli yağ asitleri (KZYA)

gibi metabolitler ile gösterir. KZYA'ler (asetat, propiyonat, butirat) hayvan tarafından sindirilemeyen karbonhidratların komensal anaerobik bakteriler tarafından fermentasyonu ile üretilir. Asetat, propiyonat ve butirat GPR41, GPR43 ve GPR109a gibi DTR'ler tarafından algılanır. Bu KZYA'leri bağırsak hücreleri tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır. Bütirat bağırsak hücrelerinde enerji metabolizmasını düzenlerken, kolon epitel hücreleri butiratu primer enerji kaynağı olarak kullanırlar (örneğin mikropsuz farelerin kolonositleri otofaji ile kendilerini öldürürler) (10). Butirat bağırsak stem hücrelerinin çoğalmasını baskılayarak epitel bariyerin bütünlüğünün korunmasını sağlar. Bu özelliğe katkıda bulunan asetatin da infeksiyonlardan korunmada rolü olduğu gösterilmiştir.

Mikrobiyom hastalık ilişkisi: Yukarıda açıklanan temel mekanizmalar ile belirli mikroorganizma grupları sağlığın sürdürülmesine katkıda bulunurken, mikrobiyom dengesini bozan bazı mikroorganizma grupları gerek metabolik faaliyetleri gerekse ürettikleri özel maddeler ile hastalık ile ilişkilendirilebilirler. Mikrobiyom konusunda bu durum daha çok indirekt ilişkiyi ifade etmektedir. Örneğin, E.coli'nin buzağıda ishale neden olması mikrobiyom-hastalık ilişkisi kapsamına alınmazken (direkt neden-sonuç), E.coli'nin bağırsakta

çoğalmasına fırsat tanıyan veya metabolitleri ile bağışıklığı düşüren ve dengeyi bozan popülasyon faaliyetleri (indirekt ilişki) bu kapsamda değerlendirilir.

Hastalık ile ilişkili anlamında, bir bütün olarak mikrobiyomun saptanması ile elde edilen önemli faydalardan birisi, patojenlerin saptanması yanında bunların tüm mikrobiyom içindeki relatif yoğunluklarının ve diğer mikroplarla ilişkilerinin anlaşılabilmesidir. Böylece diğer yollarla sadece varlığı veya yokluğu söylenebilen patojenlerin veya komensallerin, gerçekten o hastalık ile ilişkili olup olamayacağı hakkında daha gerçekçi yorum yapılabilmektedir.

Mikrobiyom çalışmalarının en önemli avantaj veya getirilerinden birisi de mikroorganizmaların belirli metabolik özelliklerine göre gruplandırılabilmesi ve hastalıklarla ilişkilendirilebilmesidir (1). Bunda klasik filogenetik ilişki veya akrabalığa dayalı taksonomi yerine, belirli düzeydeki metabolik olay veya ürün esas alınarak, buna sahip mikroplar gruplandırılmakta ve toplam mikrop popülasyonu içindeki oranı hesaplanabilmektedir. Örneğin; belirli bir hastalıkta sülfat indirgeyen bakterilerin rolü olduğundan şüpheleniyorsa, mikrobiyom içindeki bu grup klasik bilgilere dayanılarak seçilmekte ve mikrop popülasyonu içinde ne kadar yer tuttukları normal hayvanların

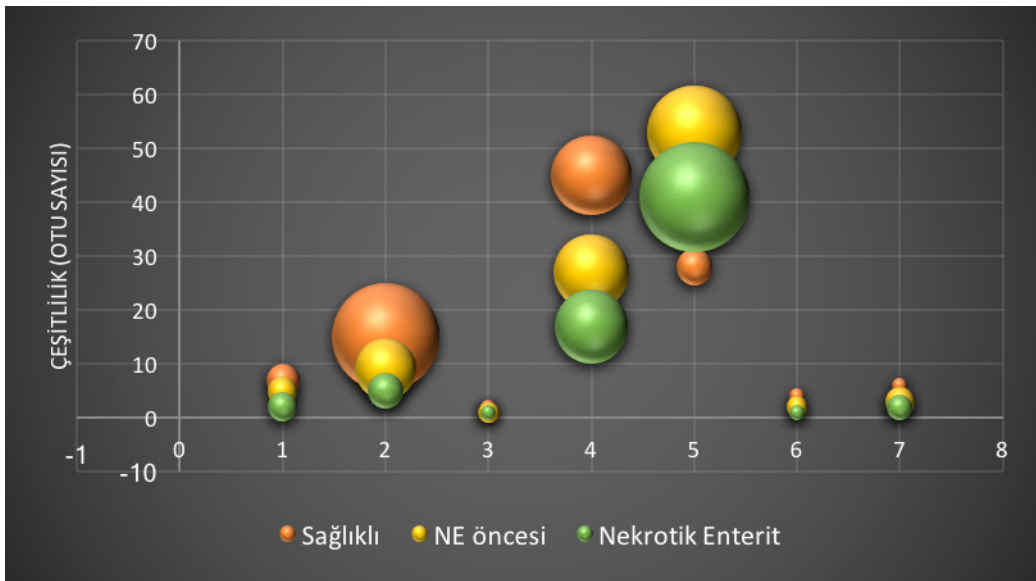
değerleri ile karşılaştırılarak belirlenmektedir. Normal popülasyonda belirli bir yüzdenin altında bulunan SRB, hastalıklı popülasyonda istatistiksel olarak önemli oranda yüksekse, o mikrop grubu ile hastalık arasında ilişki kurulmuş olmaktadır. Eğer hastalığın patogenezi baştan bilinmiyorsa, bu bulgu ayrıca, hastalığın sülfat metabolizması ilişkisi olabileceğine dair ipucu da vermektedir. Tüm bu karşılaştırmalar belli bir sürü içindeki hayvanlar arasında yapılabildiği gibi, farklı sürülerin birlikte değerlendirilmesi ile de yapılmaktadır.

Türkiye’de mikrobiyom çalışmaları:

Türkiye’de tüm sektör ve akademik branşlar içinde metagenomik analiz yoluyla mikrobiyomun incelenebildiği tek kurum Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalıdır. Bu alanda geniş kapsamlı araştırmalar yapılır ve desteklenirken, başta tıp olmak üzere gıda sektörüne de rutin hizmet verilmektedir. Tüm bu çalışmalar yapılmadan önce de her hayvan türünde her mukozal sistemin sağlıklı baz mikrobiyomunu belirlemek gerekmektedir. Böylece hangi hastalıkta hangi mikropların görüldüğünü veya ön plana çıktığını anlamak mümkün olmaktadır. Bu maksatla halen tavuklarda zaman periyotlarında bağırsak ve trakhea mikrobiyomunun değişimi, bağırsak bölümlerindeki ve solunum yollarındaki

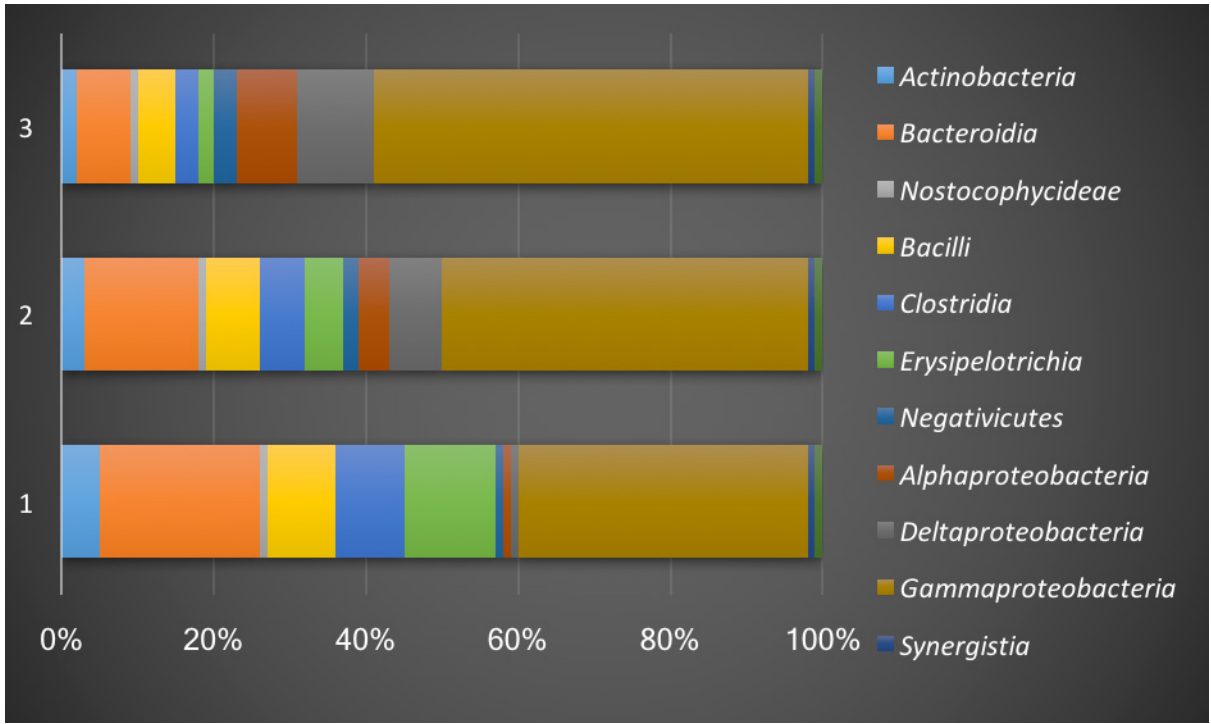
mikrobiyom farklılığı ve alandaki tavuk yoğunluğunun mikrobiyom üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Ayrıca hastalık ve infeksiyonlardaki mikrobiyom ilişkisi ile ilgili olarak, broilerlerde nekrotik enterit ile bağırsak mikrobiyomu arasındaki ilişkinin ve tavuklarda Salmonella kolonizasyonunu etkileyen bağırsak

mikrobiyomunun saptanmasına yönelik projeler devam etmektedir (Şekil 3). Kanatlılar dışında koyunlarda kazeöz lenfadenitte deri mikrobiyomu, sığırların infertilite vakalarında genital kanal mikrobiyomu ve koyunlarda paratüberküloz ile ilişkili bağırsak mikrobiyomu konularındaki araştırmalar devam etmektedir (Şekil 4).



Şekil 3: Broiler piliçlerde nekrotik enteritis gelişimi ile ilgili bağırsak mikrobiyomunun filum düzeyinde analizi. Çeşitlilik bir filum içinde saptanan OTU (takonomik bakteri grubu) sayısını, kürenin çapı o filumun relatif oranını göstermektedir. OTU sayısının ve çeşitliliğin yüksekliği patogenez ile pozitif veya negatif ilişkiye işaret etmektedir. Filumlar; 1.*Actinobacteria*, 2.*Bacteroides*, 3.*Cyanobacteria*, 4.*Firmicutes*, 5.*Proteobacteria*, 6.*Synergistetes*, 7.*Tenericutes*

Figure 3: Phylogenetic analysis of intestinal microbiome associated with development of necrotic enteritis in broiler chickens. Diversity indicates the number of OTU (taxonomic bacterial group) that is detected in a phylum, and the relative diameter of the flower is the relative proportion of that filament. The high number of OTUs and diversity indicate a positive or negative association with pathogenesis. Phylas; 1.*Actinobacteria*, 2.*Bacteroides*, 3.*Cyanobacteria*, 4.*Firmicutes*, 5.*Proteobacteria*, 6.*Synergistetes*, 7.*Tenericutes*.



Şekil 4: Üç farklı bölgedeki koyun sürüsünde paratüberküloz ile ilişkili dışkı mikrobiyomundaki bakteri sınıflarının relatif yüzde oranları. Sürüler farklı coğrafik bölgelerde olmalarına rağmen patogeneziyle ilişkili olabilecek bakteri gruplarının dağılımının benzer olduğu görülmektedir.

Figure 4: Relative percentages of bacterial classes in paratuberculosis-associated faecal microbiology across sheep in three different regions. Despite being in different geographical regions, the distribution of bacterial groups that may be associated with pathogenesis seems to be similar.

Hastalık problemlerine çözüm üretmek için ise çeşitli antimikrobiyal yaklaşımların mikrobiyom üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

Mikrobiyom çalışmalarından ilginç ve değerli bilgiler elde edilmektedir. İon Torrent sisteminin milyonlarca DNA dizisi içinde 10 tekrara kadar hassas okuma yapabilmesi, daha önce Türkiye’de hiç bilinmeyen veya dünyada

çok az bulunan bakterilerin bile saptanmasına olanak sağlamıştır (Örneğin, *Campylobacter avium*, *Helicobacter brantae*). Bu kadar düşük sayıda mikropun bile saptanabilmesi, özellikle bazı infeksiyonların başlangıç veya kolonizasyon aşamasında yakalanabilmesi imkanını doğurmaktadır. Örneğin tavuk bağırsağında indikatör bakterilerin düşük miktarlarının 16S metagenomik analizle

bulunması henüz klinik belirtileri başlamadan birkaç gün önce nekrotik enteritin habercisi olmaktadır.

Doğumdan erişkinliğe kadar geçen süreçte mikrobiyomun gelişimi ile çalışmalar ilginç sonuçlar ortaya koymuştur. Örneğin, normal doğum sonrasında yavruların barsak mikrobiyomu anne genital kanalını model alırken, sezeryanla doğan yavrularda bağırsak mikrobiyomu daha çok derinin kompozisyonuna benzemektedir. Ayrıca, erişkin dönemde önemli besin ve çevre değişikliği olmazsa bağırsak mikrobiyomu stabilken, yeni doğandan erişkinliğe kadar mikrobiyom yapısı dinamik bir seyir izlemektedir. Bu sürede, farklı metabolik fonksiyonları yürüten ana bakteri gruplarının relatif yoğunluklarında önemli değişiklikler olmaktadır. Bu değişikliklerin bir kısmı, yaşla değişen beslenme ve fizyolojiye bağlanırken, tahmin edilemeyen çevresel etkiler mikrobiyomun şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır. Örneğin, yeni doğan veya yavrulara uygulanan antibiyotikler, hayvanların sonraki yaşamlarında mikrobiyomda geçici veya kalıcı değişiklikler oluşturmaktadırlar (3). Bazı antibiyotiklerin neden olduğu değişim mikrobiyomu olumsuz etkilerken, bazıları olumlu sonuçlar doğurmaktadır.

Genelde mikrobiyal etiyojisi olan hastalıklarda mikrobiyom çeşitliliğinin azalırken, sağlıklıda çoğaldığı görülmektedir. Bu da mikrobiyomu taksonomik açıdan bilmek kadar, ortamdaki mikrop çeşitliliğinin ve zenginliğinin de önemli olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalardan bir hayvanın aynı organında farklı mikrobiyoma sahip ekolojik alanların bulunabileceği anlaşılmıştır. Örneğin köpeklerin farklı vücut bölgelerindeki deri mikrobiyomunda bulunan bakteri grupları ve relatif sıklıkları arasında önemli farklılıklar vardır.

Son olarak, mikrobiyom çalışmalarının farklı alanlarda kullanımı ile ilgili örnek vererek konunun potansiyeli gösterilebilir. Bunların çoğunda mikrobiyom ham verilerine uygulanan biyoistatistik veya biyoinformatik yöntemlerin katkısını da unutmamak gerekir. Sığırrumen ve bağırsak mikrobiyomundan yola çıkarak metan üretim miktarını modellemek ve dolayısıyla dünya atmosferindeki etkisini hesaplamak mümkündür. Daha önce sadece genomik analizi ile elde edilebilen bazı hastalıkların risk analizlerini mikrobiyomla ilişkilendirerek yapmak mümkündür. Bazı verim özelliklerini (örn. süt yağı oranı, yemden yararlanma oranı) mikrobiyomdaki bazı bakteri grupları ile ilişkilendirmek ve yetiştirmeyi yönlendirmek mümkündür.

Bu alandaki son ve en çarpıcı örnek ise mikrobiyom nakli ile istenen özelliklerde ve sağlıklı hayvanlar elde etmenin mümkün olmasıdır.

Kaynaklar

1. **Choi KY, Lee TK, Sul WJ** (2015): *Metagenomic Analysis of Chicken Gut Microbiota for Improving Metabolism and Health of Chickens-A Review*. Asian Australas J Anim Sci, **28**, 1217-1225.
2. **Deusch S, Tilocca B, Camarinha-Silva A, Seifert J** (2015): *News in livestock research - use of Omics-technologies to study the microbiota in the gastrointestinal tract of farm animals*. Computation Struct Biotechnol J, **13**, 55-63.
3. **Garmendia L, Hernandez A, Sanchez MB, Martinez JL** (2012): *Metagenomics and antibiotics*. Clin Microbiol Infect, **18**, 27-31.
4. **Hanning I, Diaz-Sanchez S** (2015): *The functionality of the gastrointestinal microbiome in non-human animals*. Microbiome, **3**, 51.
5. **Highlander SK** (2012): *High throughput sequencing methods for microbiome profiling: application to food animal systems*. Anim Hlth Res Rev, **13**, 40-53.
6. **Hooda S, Minamoto Y, Suchodolski JS, Swanson KS** (2012): *Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome*. Anim Hlth Res Rev, **13**, 78-88.
7. **Lee YK, Mazmanian SK** (2010): *Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system?* Science, **330**, 1768-1773.
8. **Levy M, Blacher E, Elinav E** (2017): *Microbiome, metabolites and host immunity*. Curr Opin Microbiol, **35**, 8-15.
9. **Santero E, Floriano B, Govantes F** (2016): *Harnessing the power of microbial metabolism*. Curr Opin Microbiol, **31**, 63-69.
10. **Stanley D, Hughes RJ, Moore RJ** (2014): *Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease*. Appl Microbiol Biotechnol, **98**, 4301-4310.
11. **Solden L, Lloyd K, Wrighton K** (2016): *The bright side of microbial dark matter: lessons learned from the uncultivated majority*. Curr Opin Microbiol, **31**, 217-226.

Geliş Tarihi: 12.04.2017 Kabul Tarihi: 21.04.2017

Yazışma Adresi:

Prof. Dr. K. Serdar DİKER

Ankara Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Mikrobiyoloji AD.

06110, Dışkapı, Ankara, Türkiye.

diker@ankara.edu.tr

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

Yayın Koşulları

1. Dergi, Veteriner Hekimleri Derneğinin yayın organı olup, yılda iki kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış adı “**Vet Hekim Der Derg**” dir.

2. Derginin yayım dili Türkçe ve İngilizcedir.

3. Dergide, tamamı daha önce başka bir yerde yayımlanmamış güncel konulara ilişkin özgün bilimsel araştırmalar, derlemeler, olgu sunumları ve kısa bilimsel çalışmalar yayımlanır. Derleme niteliğindeki çalışmalar ilgili bilim insanlarından davet usulü ile talep edilen yazılardan temin edilir.

4. Dergide yayımlanmak üzere gönderilen makaleler Editörler Kurulunca değerlendirilerek konu ile ilgili hakemlere gönderilir. Hakemlerin görüşü alındıktan sonra önerilen değişiklik ve düzeltmelerin yapılması için makale yazara/yazarlarına geri gönderilir; düzeltmeler yapıldıktan sonra yayımlanır. Hakemlerin önerileri dışında makalelerde sonradan ekleme ve çıkartma yapılamaz. Yayımlanması uygun bulunmayan makalelerle ilgili herhangi bir iade yapılmaz.

5. Dergide yayımlanması istenen yazılar, çift aralıklı olarak, kâğıdın bütün kenarlarından 30 mm boşluk bırakılarak ve 12 pt Times New Roman kullanılarak, A4 (210 x 297 mm) formunda ve MS Word formatında oluşturulmalıdır. İlk sayfa hariç her sayfada sayfa numarası üst orta hizada konumlandırılmalı ve sayfa başlarına satır numaraları (sürekli) eklenmelidir. Yazar, yayımlanması istenen yazıyı 1 nüshası yazar ismi/isimleri bulunan, 2 nüshası ise yazar ismi/ isimleri olmaksızın toplam 3 basılı nüsha olarak CD içerisinde üst yazıyla posta yoluyla gönderebileceği gibi, elektronik ortamda 1 nüshası yazar ismi/isimleri bulunan, 1 nüshası ise yazar ismi/isimleri olmaksızın toplam 2 nüsha halinde “**vethekder@gmail.com**” adresine gönderebilir. Elektronik ortamda gönderilecek yazıların içeriğinde bulunan resim ve/veya grafikler, orijinal formatında ve yüksek çözünürlüklü olacak şekilde ayrı bir dosyada sunulmalıdır. “Yayın Hakkı Devri Formu” yazar/yazarlar tarafından doldurulup imzalanarak yayın başvurusuna eklenmelidir. Yazıların tamamı, şekil ve tablolar dâhil olmak üzere orijinal bilimsel araştırmalarda 15, derlemelerde 15, olgu sunumları 5 ve kısa bilimsel çalışmalarda 3 sayfayı geçmemelidir.

6. Makaleler; başlık, yazar/yazarların isimleri, Türkçe öz ve anahtar sözcükler, yabancı dilde başlık, yabancı dilde öz ve anahtar sözcükler, giriş, gereç ve yöntem, bulgular, tartışma ve sonuç, teşekkür ve kaynaklar sırası ile hazırlanmalıdır. **Anadili Türkçe olmayan iletişim yazarının çalışmasında Türkçe özet şartı aranmaz. Sosyal bilimler alanındaki çalışmalar ile sağlık ve fen bilimleri alanındaki kısa bilimsel çalışmalarda, giriş, gereç ve yöntem, bulgular, tartışma ve sonuç bölümlemesi yapılmayabilir.**

7. Makalenin başlığı kısa ve açık olmalı; ilk sözcüğün başlangıcı büyük, diğerleri küçük harflerle olacak şekilde, yazılmalıdır (“Köpek ve kedilerde uterus patolojileri” gibi). Varsa çalışmaya ilişkin açıklama dipnot işareti ile gösterilmelidir.

8. Yazar/yazarların, ad ve soyadları makale başlığının altına yazılmalıdır; adresleri ve unvanları ilk sayfada dipnot şeklinde belirtilmelidir.

9. Öz, makalenin önemli noktalarını içerecek tarzda kısa ve açık olmalıdır. Türkçe Öz, en az 150, en fazla 200 sözcük olmalıdır. Anahtar sözcükler MeSH (Medical Subject Headings) terimlerine uygunluk açısından Türkiye Bilim Terimleri’nden seçilmeli ve en az 3, en fazla 5 adet olacak şekilde alfabetik olarak sıralanmalıdır. Yabancı dilde Öz (Abstract), en az 250, en fazla 300 sözcük olmalıdır. Yabancı dilde anahtar sözcükler MeSH terimlerine uygun olmalı ve en az 3, en fazla 5 adet olacak şekilde alfabetik olarak sıralanmalıdır.

10. Giriş bölümünde, çalışma ile doğrudan ilgili kısa literatür bilgisi verildikten sonra, son paragrafta çalışmanın amacı vurgulanmalıdır. Bu bölüm 2 sayfayı geçmemelidir.

11. Gereç ve Yöntem, gereksiz ayrıntıya girilmeden, öz ve anlaşılır biçimde yazılmalıdır.

12. Bulgular bölümünde, veriler kısa bir şekilde açıklanmalıdır. Tablolarda verilen bulguların metinde tekrarlanmasından kaçınılmalıdır.

13. Bölüm başlıkları ortalı biçimde, kalın yazı karakteri ile sözcüklerin ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. İkinci derecedeki alt başlıklar sola dayalı olarak kalın yazı karakteri ile sadece ilk harf büyük olacak şekilde küçük harflerle yazılmalıdır. Üçüncü derecedeki başlıklar ise paragraf başında yer almalı ve

italik olarak sadece ilk harf büyük olacak şekilde küçük harflerle yazılmalıdır.

14. Tablo ve şekil başlıkları, Türkçe ve yabancı dilde yazılmalıdır. Tablolarda dikey çizgi kullanımından kaçınılmalıdır. Yatay çizgiler ise gerektiğinde yalnızca tablonun ilk satırı ve son satırından sonra kullanılabilir.

15. Yazarlar her bir bilimsel kısaltmanın açılımını metinde ilk geçtiği yerde açıklamalıdır. Latince cins ve tür isimleri italik yazı tipi ile yazılmalıdır. Tüm ölçüler SI (Système Internationale)’ye göre verilmelidir.

16. Tartışma ve Sonuç bölümünde, veriler literatür bilgilerinin ışığında tartışılmalı ve yorumlanmalıdır.

17. Kaynaklar bölümünde, bibliyografik bilgi, alfabetik sıra ile verilmeli, çok yazarlı çalışmalarda yazar adlarının arasına sadece virgül konulmalıdır. Kaynaklar alfabetik ve kronolojik dizin dikkate alınarak sıralanmalı ve numaralandırılmalıdır. Kaynak yazımında yazar adları kalın, konu başlığı italik yazı tipi ile yazılmalıdır. Dergi adlarının kısaltılmasında “Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation”ın son baskısı esas alınmalıdır. Metin içerisinde kaynak, parantez içerisine alınmış sıra numarası ile belirtilmelidir. Metin içerisinde kaynak kullanımında, aynı konuyu bildiren birden çok kaynak varsa bunlar sıraları itibarıyla küçükten büyüğe doğru sıralanmalı ve sayıları 5’i geçmemelidir.

Kaynak bilimsel çalışma ise:

Kasperowicz A, Michalowski T (2002): *Assessment of the fructanolytic activities in the rumen bacterium Treponema saccharophilum strain S*. J Appl Microbiol, **92**, 140–146.

Sandstedt K, Ursing J, Walder M (1983): *Thermotolerant Campylobacter with no or weak catalase activity isolated from dogs*. Curr Microbiol, **8**, 209-213.

Kaynak kitap ise:

Falconer DS (1960): *Introduction to Quantitative Genetics*. Oliver and Boyd Ltd, Edinburgh.

Kaynak kitaptan bir bölüm ise:

Bahk J, Marth EH (1990): *Listeriosis and Listeria monocytogenes*. 248-256. In: DO Cliver (Ed), *Foodborne Diseases*. Academic Press, San Diego.

Kaynak internette yer alıyor ise erişim tarihi ile birlikte yazılmalıdır.

Otte MJ, Chilonda P (2007): *Animal Health Economics: An introduction*. Erişim: <http://www.fao.org/ag/againfo/resources/en/publications/agapubs/pproc01.pdf>.

Erişim Tarihi: 11.05.2007

18. Yazışma adresi, çalışmanın sonunda yer almalıdır. Çok yazarlı çalışmalarda yazarlardan sadece iletişim yazarının adı, yazışma adresi olarak belirtilmelidir.

19. Veteriner Hekimler Derneği Dergisinde yayımlanacak olan, hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda “Etik Kurul Onayı Alınmıştır” ifadesi aranır.

20. Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

21. Dergide yayımlanan her türlü makalenin sorumluluğu yazarlarına aittir.

22. Gönderilen makaleler geliş tarihine göre hakeme gönderilir ve yayın kurulunun aldığı kararla yayımlanır. Makale yayımlandıktan sonra yayın hakkı dergiye aittir.

23. Dergiden alıntı yapılması gerektiğinde, derginin kaynak gösterilmesi zorunludur.

The Journal of Turkish Veterinary Medical Society

Instructions to Authors

1. The Journal of Turkish Veterinary Medical Society is a general veterinary medical journal being published 2 times a year and its abbreviation is "J Turk Vet Med Soc".

2. The language of the journal is Turkish or English.

3. In the journal, researches about recent subjects of which all parts have not been published elsewhere before, original scientific articles, reviews, short communications and case reports are published. **Review articles are obtained from relevant scientists by invitation with request from the editorial board.**

4. Manuscripts to be published in the journal are evaluated by the Editorial Board and then sent to relevant reviewers. After reviews the manuscript is sent back to the author/authors for the required corrections; after the corrections are done the manuscript is published. No addition or subtractions can be done on the manuscript other than the ones suggested by the reviewers. There will be no returns for manuscripts not accepted for publication.

5. Manuscripts submitted for publishing in the journal should be; double spaced, 30 mm margins on all sides, in Times New Roman font and font size 12, A4 paper size (210 x 297 mm) and prepared using MS Word format. Sequential line numbering and page numbers should be placed on top-middle of all pages except the first page. The author may send 1 copy including author names, 2 copies not including author names and the signed statement of Head of Department copied into a CD by mail; or in electronic environment with 1 copy including author names and 1 copy not including author names to vethekder@gmail.com mail address. The figure and/or graphs that are included in the manuscript sent electronically should be placed in a separate document in original format and high resolution. All manuscripts must be submitted with a copyright release form filled and signed by all authors. Manuscripts including figures and tables should not exceed 15 pages for original research articles, 15 pages for review articles, 5 pages for case reports and 3 pages for short communications.

6. Manuscripts must be prepared in the following order; title, author name/names, Turkish abstract and keywords, English title, English abstract and keywords, introduction, material and methods, results, discussion and results, acknowledgement and references. **Researchers whose native language is not Turkish do not have to write an abstract in Turkish. Research articles in social science field and short communications in health and natural and applied sciences fields may not have introduction, material and methods, results, discussion and conclusion divisions.**

7. Manuscript title should be short and clear; the first letter should be in capital letters and the rest in small letters (e.g. "Uterine pathologies in cats and dogs"). If there is one, the explanation regarding the study should be indicated as footnotes.

8. Name and surnames of the authors should be written under the article title; their addresses and titles must be placed in the first page as a footnote.

9. Abstract should be short, plain and include the most important parts of the manuscript. The English abstract must be at least 250, at most 300 words. At least 3, at most 5 English keywords should be selected in accordance with MeSH and written alphabetically.

10. Introduction should include the literature reviews related to the study and the aim/s should be indicated in the last paragraph. Introduction should not exceed 2 pages.

11. Material and methods should be written in a clear and understandable manner without any unnecessary details.

12. In results, the data should be shortly explained. Repetition of data given in tables should be avoided.

13. Titles must be centered and written bold with the first letter of each word capitalized. Second degree subtitles must be left justified with only the first letter capitalized. Third degree subtitles

must be at the beginning of the paragraph and written Italic with only the first letter capitalized.

14. Table and figure titles must be written both in Turkish and in English. Vertical lines should not be used in the tables. If horizontal are needed, they may only be used under the first and last lines of the table.

15. Authors must place the extension of abbreviations in the first use in text. Genus and species names in Latin must be written in Italic. All measurements must be indicated according to Systeme Internationale (SI) units.

16. In discussion and conclusion, the data should be interpreted with other study results indicated in the reference list.

17. The references must be in alphabetical order, researches including more than one author should be written with only commas between author names. References must be placed in order according to alphabetical and chronological order, and they must be numbered. In references, names of the authors must be written bold, and the title of the research must be written Italic. The journal name abbreviations must be in accordance with the last edition of "Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation". The reference in text must be cited with number written in paranthesis. For reference use in the text, if there are more than one references cited they should be in ascending order and should not exceed 5 references.

If the reference is an article:

Kasperowicz A, Michalowski T (2002): *Assesment of the fructanolytic activities in the rumen bacterium Treponema saccarophilum strain S.* J Appl Microbiol, **92**, 140-146.

Sandsedt K, Ursing J, Walder M (1983): *Thermotolerant Campylobacter with no or weak catalase activity isolated from dogs.* Curr Microbiol, **8**, 209-213.

If the reference is a book:

Falconer DS (1960): *Introduction to Quantitative Genetics.* Oliver and Body Ltd, Edinburgh.

If the reference is a chapter of a book:

Bahk J, Marth EH (1990): *Listeriosis and Listeria monocytogenes.* 248-256. In: DO Cliver (Ed), *Foodborne Diseases.* Academic Press, San Diego.

If the refence is electronic, it shoul be written with the access date

Otte MJ, Chilonda P (2007): *Animal Health Economics: An introduction.* Access: <http://www.fao.org/ag/againfo/resources/en/publications/agapubs/pproc01.pdf> . Date of Access: 11.05.2007

18. Adress of correspondance should be given at the end of the research. In researches with more than one author, only corresponding author's name should be given as correspondance adress.

19. In researches based on animal experiences which are to be published in the Journal of Turkish Veterinary Medical Society should include an approval statement of Ethical Committee. A copy of Ethical Committee's approval statement might be requested for accepted manuscripts at review stage.

20. The tradenames of products which are subjects of study should not be used.

21. Authors are fully responsible for the article published in the journal.

22. The articles recieved are subjected to review according to their arrival dates and are published consistent with the decision of the Editorial Board. After the article is published, the rights of publication belong to the journal.

23. If any citation is made from the journal, the journal name must be shown.

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

Journal of Turkish Veterinary Medical Society

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi
Journal of Turkish Veterinary Medical Society

www.veteriner.org.tr
ISSN 0377-6395

YAYIN HAKKI DEVRİ FORMU

Bu formu imzalayan yazarlar, basıldığı takdirde, gönderdikleri ve aşağıda başlığı olan yazının içeriği ile ilgili hiçbir konuda Veteriner Hekimler Derneği Dergisinin sorumlu olmadığını kabul ederler.

Yazı Başlığı:

.....
.....
.....
.....

Bu formu imzalamakla, yazıları basılan yazarlar;

- yazının, İçerdiği verilerin, resimlerin ve çizimlerin orijinal olduğunu,
- verileri ve yayın üzerinde yazar(lar) dışında başka kişi ve kurumların hak sahibi olmadığını,
- başka bir dergiye gönderilmemiş olduğunu,
- daha önce yayınlanmadığını, veya
- kısmen de olsa, veriler daha önce yayınlandıysa bunların Veteriner Hekimler Derneği Dergisi'nde yayınlanması için gerekli izin alınıp bu forma eklendiğini kabul ederler.

Yazarların saklı hakları şunlardır:

- Yayın hakkı (copyright) dışında kalan, hasta hakları da dâhil olmak üzere içeriğe ait tüm mülkiyet hakları,
- Yazının içeriğinin tamamı veya kısımlarını, kendilerine ait başka çalışmalarda karşılıksız kullanma hakkı,

Bu yazının yayınlanmasına dair sorumlulukları kabul ediyor ve imzalıyoruz. Böylece, yazının yayın hakkını (copyright) Veteriner Hekimler Derneği Dergisine devrediyoruz.

Yazarlar ve İmza

Ad	Soyad	İmza	Tarih
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Bu form tam olarak doldurulup bütün yazarlarca imzalandıktan sonra, yayın başvurusu sırasında yayınlamakla birlikte aşağıdaki adrese posta ile gönderilmelidir:

Veteriner Hekimler Derneği, Ziya Gökalp Caddesi No:16/7 Kızılay, Ankara

Journal of Turkish Veterinary Medical Society

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

Journal of Turkish Veterinary Medical Society

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

www.veteriner.org.tr

ISSN 0377-6395

COPYRIGHT RELEASE FORM

Authors who sign this form accept that, if the manuscript is printed, Journal of Turkish Veterinary Medical Society does not accept any responsibility about the text they have sent of which the title is stated below.

Title:

.....
.....
.....
.....

By signing this form, the authors accept that;

- the text, the data included, graphs and charts are original,
- other people or institutions do not possess any rights over the data and text,
- the text has not been sent to another journal,
- has not been published before, or
- even though some of the data has been published before, the required permit for the data to be published in

the Journal of Turkish Veterinary Medical Society has been added to this form,

Authors implied rights are:

- Apart from the copyright release rights, all proprietary rights of the contents including patient rights,
- All content of the text or parts, unrequited usage rights in their other studies,

We accept responsibility about the publishing of the text and sign. Thus, we hand over the text publishing rights (copyright) to the Journal of Turkish Veterinary Medical Society.

Authors and signatures

Name	Surname	Signature	Date

This form should be filled in and signed by all authors, and then sent with the text at the publication application to the address by mail stated below:

Veteriner Hekimler Derneği, Ziya Gökalp Caddesi No:16/7 Kızılay, Ankara